ATTI

DELLA

REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCIII.

1906

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XV.

2° Semestre.

ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1906

Fisiologia. — *Effetti delle iniezioni di succo d'ipofisi sull'accrescimento somatico* (1) Nota del dott. Ugo Cerletti (2), presentata dal Socio L. Luciani.

Scarso contributo alla conoscenza delle funzioni sull'ipofisi cerebrale hanno portato le prime numerose ricerche sperimentali, che miravano a determinare gli effetti della distruzione dell'organo o l'azione fisiologica immediata degli estratti ipofisarî. I numerosi fatti descritti, lungi dal consentire il costituirsi d'una dottrina convincente, hanno formato e formano tutt'ora oggetto di vive discussioni circa il loro valore e la loro interpretazione. Convien riconoscere che noi siamo debitori delle teorie per ora più plausibili, intorno alle funzioni della ipofisi, alla clinica e precisamente ai numerosi studî sulla patogenesi di quella singolare malattia delle ossa che va sotto il nome di acromegalia.

La teoria patogenetica che oggi è più generalmente accettata è ancor quella che fa capo al Tamburini (3), per la quale si ammette che la sindrome acromegalica dipenda da una iperfunzione della ipofisi. Ma, con l'accrescersi della casistica dell'acromegalia, meglio si vennero delineando gli intimi rapporti che esistono tra certi fenomeni del gigantismo e i fatti acromegalici, rapporti che, illustrati specialmente per opera del Tamburini e del Massalongo (4), permettevano più tardi a Brissaud e Meige (5) di formulare

(1) Dal Laboratorio di Anatomia patologica della R. Clinica psichiatrica di Roma, diretta dal prof. A. Tamburini.

(2) Bibliografia. — I limiti ristretti di questa Nota sommaria non mi consentono di risalire all'ampia letteratura sull'argomento, che, del resto, si trova molto diligentemente riunita e commentata in recenti pubblicazioni, fra le quali v., per l'acromegalia: Schütte, *Die patholog. Anat. der Akromegalie* (Centralbl. f. Allgem. Path. und path. Anat., 1898, pag. 591); Pittaluga, *Contributo alla casuistica dell'acromegalia* (Annali dell'Istit. Psich. di Roma, 1902, pag. 74); Modena, *L'acromegalia* (Riv. Sperim. di Freniatria, 1903, fasc. III, IV, pagg. 629 e 843); Launois et Roy (v. più oltre). E, per le ricerche sperimentali sull'ipofisi: Caselli (v. più oltre); Lo Monaco, e v. Rynberk, *Sulla funzione dell'ipofisi cerebrale* (Rendic. Accad. dei Lincei, 1901, vol. X, pagg. 172, 212); Scaffidi, *Ueb. d. feineren Bau u. die Funktion der Hypophysis des Menschen* (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXIV, 1904); Guerrini, *Sulla funzione dell'ipofisi* (Sperimentale, 1904, pag. 837); Fichera, *Sulla distruzione dell'ipofisi* (Sperimentale, 1905, pag. 739).

(3) Tamburini, *Contributo alla patogenesi dell'acromegalia* (Congresso Intern. Roma, 1894, 4 apr. e Rivista Sperim. di Fren. 1894, pag. 559; 1895, pag. 414).

Id. *Dell'acromegalia* (IX Congr. della Soc. Freniatrica 1897). *De l'acromégalie* (Congrès intern. de neurolog. Bruxelles, 1897).

(4) Massalongo, *Sull'acromegalia* (Riforma medica, 1892. vol. III).

(5) Brissaud et Meige, *Gigantisme et acromégalie* (Journal de médecine et de chir. pratiques, 25 janv. 1895, pag. 49).

l'unificazione clinica delle due sindromi nell'elegante aforisma: « L'acromegalia è il gigantismo dell'adulto, il gigantismo è l'acromegalia dell'adolescente », unificazione che, recentemente, sulla traccia del Woods Hutchinson (1), venne estesa anche alla loro patogenesi, da Launois et Roy (2), nella formula: « L'acromegalia ed il gigantismo acromegalico costituiscono una sindrome ipofisaria ».

Il concetto patogenetico verso cui tende ormai la massima parte dei clinici sarebbe adunque il seguente: L'iperfunzione dell'ipofisi cerebrale, nel periodo che precede la ossificazione delle cartilagini epifisarie, darebbe origine ad un maggior sviluppo in lunghezza delle ossa, specialmente delle ossa degli arti, donde il gigantismo; invece l'iperfunzione dell'ipofisi, iniziantesi dopo avvenuta la ossificazione delle cartilagini epifisarie, darebbe origine alle ipertrofie ossee proprie dell'acromegalia.

Questo precisarsi delle ipotesi circa la fisiopatologia dell'ipofisi, non poteva mancare di ripercuotersi nel campo dello sperimento, e, infatti, nel 1900, il Caselli (3) cerca di determinare l'influenza dell'ipofisi sull'accrescimento dell'organismo, distruggendo la pituitaria in animali di tenera età. Per la grande mortalità che comporta la grave operazione, egli non riuscì a mantenere in vita che un solo cane, durante 56 giorni, in capo ai quali esso pesava circa 900 grammi meno del cane di controllo. Ne concludeva che « un arresto funzionale dell'ipofisi, negli animali in via di sviluppo, apporta un ritardo nel normale accrescimento del loro organismo ». Nel 1905, il Fichera (4) ripeteva l'esperimento. Operando su giovani polli, egli potè ottenere la distruzione totale dell'ipofisi in quattro polli, i quali, quattro mesi dopo l'operazione, erano manifestamente più piccoli dei polli di controllo: in due di essi si constatava una differenza in meno, sul peso medio, rispettivamente di grammi 650 e 720. Per l'esiguo numero delle esperienze, l'A. non crede di poter mettere senz'altro questo ritardo o arresto di sviluppo in rapporto unico e costante con la lesione o la distruzione dell'ipofisi; certo è che l'aver egli dimostrato, in precedenti ricerche (5), che negli animali castrati (in cui si determina il noto iperaccrescimento a carico specialmente dello scheletro), si presenta costantemente e molto precocemente una ipertrofia dell'ipofisi, rendeva di grande attualità l'esperimento e ne confortava non poco le conclusioni.

(1) Woods Hutchinson, *The pituitary Gland as a factor in Acromegaly and Giantism* (New York med. Journ., 12 marz-2 apr. 1898 e 21-28 lugl. 1900, pag. 92).

(2) Launois et Roy, *Études biologiques sur les Géants*. Paris, Masson, 1904, pag. 193.

(3) Caselli, *Sulla influenza della funzione dell'ipofisi sullo sviluppo dell'organismo* (Riv. Sperim. di Fren., marzo 1900, pag. 176).

(4) Fichera, *Sulla distruzione dell'ipofisi* (Sperimentale, 1905, pag. 739).

(5) Id. *Sulla ipertrofia della pituitaria consecutiva alla castrazione* (Policlinico, vol. XII, 1905).

Riprendendo l'importante problema, io mi sono proposto di studiare, con una prima serie di esperimenti, gli effetti che il succo ipofisario, introdotto dell'organismo di animali in via di sviluppo, può avere sul loro accrescimento somatico.

Mi dispenso di far qui menzione delle numerose ricerche che sono state fatte con diversi estratti dell'ipofisi, per studiarne l'azione fisiologica immediata sul sistema circolatorio, sul sistema nervoso ecc., in quanto queste ricerche non interessano direttamente il mio assunto.

L'opoterapia ipofisaria, tentata da Pierre Marie e Marinesco (1), e da Mendel (2) mediante ingestione d'ipofisi, non ha dato risultati conclusivi. Schiff (3) ha notato che, durante questo trattamento, si ha un'aumentata eliminazione di acido fosforico, e ne deduce che l'ingestione d'ipofisi, analogamente all'ingestione di tiroide, esercita verosimilmente uno stimolo negli scambî organici e sulle eliminazioni. Lo stesso fatto avrebbe osservato anche il Moraczewski (4). Vassale e Sacchi (5) videro migliorare lo stato degli animali, in cui avevano distrutta l'ipofisi, in seguito ad iniezioni sottocutanee di succo ipofisario. Caselli (6), sottoponendo conigli e cani di giovane età ad iniezioni ipodermiche d'un estratto glicerico filtrato d'ipofisi di bue, nella maggior parte dei suoi animali non ebbe a rilevare alcun fenomeno degno di nota; in due cani soltanto notò fenomeni cachettici. Infine il Parhon (7), in una recente pubblicazione ha annunziato di aver intrapreso ricerche iniettando in animali castrati, nei quali si determina l'ipertrofia pituitaria, un estratto d'ipofisi cerebrale ipertrofica tratta da animali castrati, della stessa specie, nell'obbiettivo di riprodurre la sindrome acromegalica. Finora però, egli non ha dato notizia dei risultati di queste progettate esperienze.

I miei esperimenti volsero fin'ora sopra 16 cavie, 36 conigli e 6 cani. Ho diviso le cavie e i conigli per covate, nelle quali suddividevo gli animali a coppie, mettendo insieme quelli il cui peso più era vicino. Di queste coppie, un animale veniva sottoposto al trattamento ipofisario, l'altro veniva tenuto per controllo. Ho cercato di disporre nelle coppie varie combinazioni

(1) Pierre Marie et Marinesco, *Sur l'anatomie pathologique de l'Acromégalie* (Arch. de med. expérim. et d'anatomie path., 1891, pag. 539).

(2) Mendel, Dal Launois et Roy.

(3) Schiff, *Hypophysis und Thyreoidea in ihrer Einwirkung auf den menschlichen Organismus* (Zeitschrift. f. Klin. Med. 1897. Bd. 32. e Wiener Klin. Woch. 1897, n. 12. pag. 279).

(4) Moraczewski, *Stoffwechsel bei Akromeg. unter der Behandlung mit Sauerstoff*, etc. (Zeitsch f. Klin. med. 1901. Bd. XLIII. H. 3. 4).

(5) Vassale e Sacchi, *Sulla distruzione della gland. pituitaria* (Riv. sperim. di Freniatria. 1892, pag. 559).

(6) Caselli, *Studi anatomici e sperim. sulla fisio-patologia della glandola pituitaria.* (Reggio nell'Emilia, Calderini, 1900, pag. 124 e segg.)

(7) Parhon, *Patogenia si tratamentul Acromegaliei* (Revista Stüntelor medicale, 1905).

dei sessi. Il peso delle cavie, all'inizio dell'esperimento, variava dai 140 ai 300 grammi; quello dei conigli, dai 350 ai 500 grammi. Tutti gli animali hanno sempre vissuto insieme, nelle identiche condizioni di vita.

Partendo dal presupposto che, ove l'ipofisi abbia eventualmente una funzione in rapporto con l'accrescimento somatico in genere, scheletrico in ispecie, è probabile che essa presenti il *maximum* di questa sua attività nel periodo dello sviluppo, io mi son proposto di servirmi, in questa serie di esperienze, d'ipofisi di animali in via d'accrescimento. Per le difficoltà materiali inerenti al modo di procacciarsi in quantità sufficiente le ipofisi necessarie durante un esperimento di lunga durata, ho dovuto rinunziare a servirmi di ipofisi tratte da animali della stessa specie di quelli sottoposti alla esperienza, quindi mi sono servito esclusivamente di ipofisi di piccoli agnelli. Il volume di una di queste ipofisi uguaglia quello di due chicchi di caffè, affrontati per la loro faccia piana; il peso varia tra 20 e 30 centigrammi.

Nell'obiettivo di evitare per quanto possibile ogni manipolazione del materiale che potesse alterarne le proprietà biochimiche, ho incominciato col sottoporre i miei animali all'innesto intraperitoneale di una ipofisi di agnello, ripetendo l'operazione ogni 10 giorni circa. Mi sorse poi il dubbio che lo stato generale degli animali avesse a soffrire per il periodico ripetersi dell'operazione non lieve, la quale, d'altro, canto, per l'inerente pericolo di infezione, metteva di continuo a repentaglio l'esito dell'esperimento, e perciò ho cambiato tecnica, sottoponendo gli stessi animali ad iniezioni sottocutanee di una emulsione glicerico-acquosa d'ipofisi d'agnello, che preparavo nel modo seguente:

Estratte le ipofisi dal cranio di agnelli di recente uccisi, esse venivano accuratamente spogliate dei loro involucri connettivali, quindi si spappolavano in un mortaio insieme a glicerina (tante gocce, quante ipofisi) e lana di vetro. La fine poltiglia così ottenuta veniva centrifugata; si raccoglieva la parte liquida e di nuovo di spappolava il residuo solido in un poco di soluzione fisiologica; si centrifugava nuovamente e così via, ripetendosi la operazione 5 o 6 volte e cioè finchè altro non rimanesse, nel fondo della provetta, che la polvere di vetro candida. Si proporzionavano i liquidi in modo che una siringa di Pravaz del liquido totale, corrispondesse ad una ipofisi. Tutta questa preparazione si eseguiva avendo riguardo alle più scrupolose regole dell'asepsi.

Nelle cavie e nei conigli iniettavo una quantità d'emulsione corrispondente a circa $^3/_4$ d'ipofisi, ogni 5 o 6 giorni a seconda della quantità di materiale disponibile volta per volta. Dopo poche iniezioni ipodermiche, avendo osservato che, a volte, l'emulsione iniettata rimaneva a lungo accumulata nel sottocutaneo, formandovi noduli caseosi e anche veri ascessolini, ho abbandonato questo modo di somministrazione, ed ho preso ad iniettare la stessa emulsione nel cavo peritoneale. Queste iniezioni sono perfettamente tollerate

dagli animali, che non manifestano il minimo disturbo nello stato generale, neppure una apprezzabile elevazione di temperatura nè pochi minuti ed ore, nè parecchie ore dopo l'operazione. Non ho avuto un solo caso di sepsi.

La perfetta tolleranza a queste iniezioni m'indusse ad estendere l'esperimento ai cani. Ho potuto procurarmi una robusta e grossa cagna da pastore bastarda. Ne nacquero cinque femmine e un maschio che crebbero, nel canile della clinica, in ottime condizioni durante il primo mese di vita. In quest'epoca, quando cioè ho iniziato l'esperimento, i cucciotti pesavano rispettivamente: Maschio A: gr. 2250, Femmina B: gr. 2150, Femmina C: gr. 2100, Femmina D: gr. 2080, Femmina E: gr. 2070, Femmina F: gr. 1930. Ho scelto come controllo il cane B, che fu regolarmente sottoposto ad iniezioni endoperitoneali di 1 cc. di soluzione fisiologica alla quale eransi aggiunte 2 gocce di glicerina. I cani A, C, E, F, furono sottoposti alle iniezioni intraperitoneali della emulsione glicerico-acquosa d'ipofisi, in ragione di una ipofisi d'agnello ogni 3 giorni; infine il cane D fu sottoposto a un'identica serie di iniezioni d'una emulsione glicerico-acquosa di tiroide di agnello, tratta con lo stesso processo adottato per la preparazione dell'emulsione d'ipofisi, in ragione di 30 centigrammi di tessuto tiroideo per iniezione. Cinquanta giorni dopo l'inizio dell'esperimento, si sono sospese le iniezioni nel cane E, e invece si è raddoppiata la dose d'emulsione ipofisaria nel cane F.

Tutti gli animali: cavie, conigli e cani venivano pesati ogni 10 giorni circa, alla stessa ora. Nei cani furono eseguite metodiche misurazioni della gamba posteriore, mediante un calibro al millimetro, mantenendo la gamba ad angolo retto con la coscia e il piede ad angolo retto con la gamba; quindi prendendo come punti di repere il calcagno e la protuberanza patellare.

Questo metodo è il risultato di molti tentativi per procurarsi una misura comparativa anche grossolana sullo sviluppo delle ossa lunghe negli animali in vita. È certo che non fornisce cifre d'una esattezza ineccepibile, ma quando il cane sia tenuto immobile e si ripetano parecchie volte di seguito le misurazioni, si può notare che le differenze fra le varie cifre ottenute, oscillano entro 1-2 mm., quindi la media comporta un errore che, date le discrete proporzioni della gamba in questi animali, si può ritenere trascurabile. Nelle cavie e nei conigli, invece, essendo molto più brevi i segmenti dell'arto, l'errore suddetto risulta tutt'altro che trascurabile.

Con le cifre che rappresentano il peso successivo degli animali, ho disegnato tanti diagrammi quante coppie o gruppi di animali tenevo in esperimento. Parimenti ho costrutto un diagramma con le cifre che rappresentano la lunghezza delle gambe dei sei cani. Mi limito a presentare qui tre diagrammi relativi al peso delle cavie e tre relativi al peso dei conigli; dei cani, il diagramma del peso e quello dell'accrescimento delle ossa della gamba.

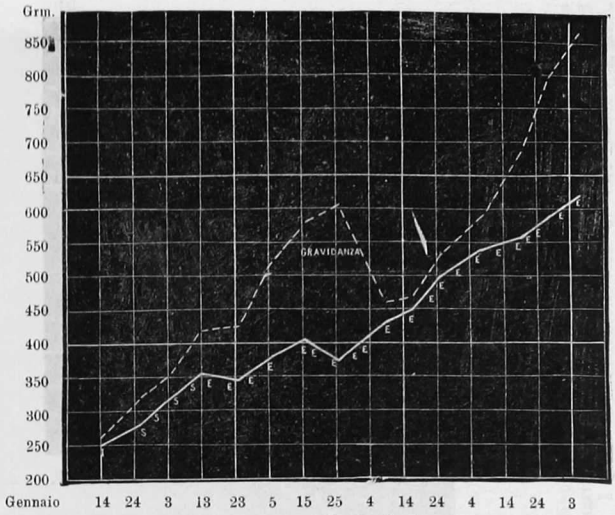

DIAGRAMMA N. 1: Cavie.

La linea continua rappresenta l'accrescimento in peso di una cavia di sesso femminile sottoposta al trattamento ipofisario durante 144 giorni. — I = Innesto intraperitoneale di 1 ipofisi d'agnello. S = Iniezioni sottocutanee di emulsione glicerico-acquosa d'ipofisi d'agnello. E = Iniezioni endoperitoneali della stessa emulsione. La linea tratteggiata rappresenta l'accrescimento in peso d'una cavia di sesso femminile nata dalla stessa genitrice e tenuta, come controllo, nelle identiche condizioni di vita della precedente. Nel mese di Marzo è intervenuta una gravidanza e un'altra è cominciata nel Maggio.

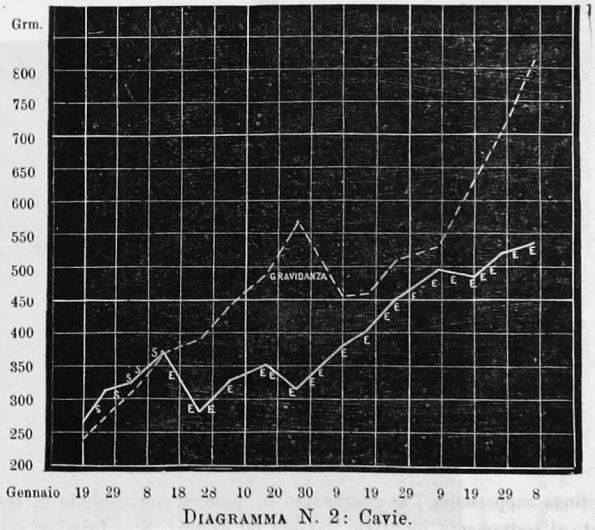

DIAGRAMMA N. 2: Cavie.

La linea continua rappresenta l'accrescimento in peso d'una cavia di sesso maschile sottoposta al trattamento ipofisario durante 138 giorni. — S = Iniezioni sottocutanee di emulsione glicerico-acquosa d'ipofisi d'agnello. E = Iniezioni endoperitoneali della stessa emulsione. La linea tratteggiata rappresenta l'accrescimento in peso di una cavia di sesso femminile, nata dalla stessa genitrice e tenuta come controllo. Nel mese di Marzo è intervenuta una gravidanza e un'altra è incominciata nel Maggio.

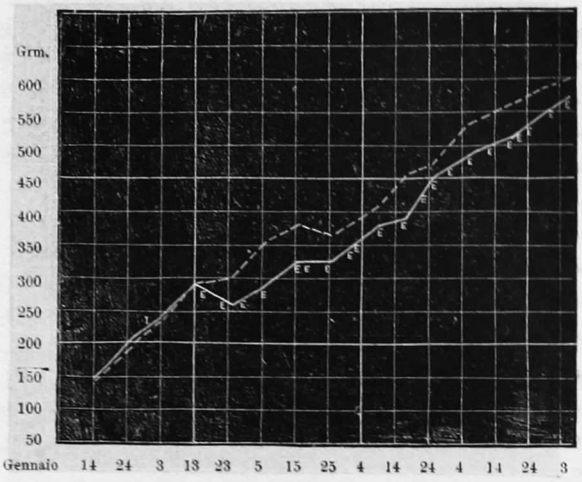

Diagramma N. 3: Cavie.

La linea continua rappresenta l'accrescimento in peso d'una cavia di sesso femminile sottoposta al trattamento ipofisario durante 130 giorni. — I = Innesto intraperitoneale d'una ipofisi d'agnello. E = Iniezioni endoperitoneali d'emulsione glicerico-acquosa d'ipofisi d'agnello. La linea tratteggiata rappresenta l'accrescimento in peso d'una cavia di sesso maschile, nata dalla stessa genitrice, tenuta per controllo.

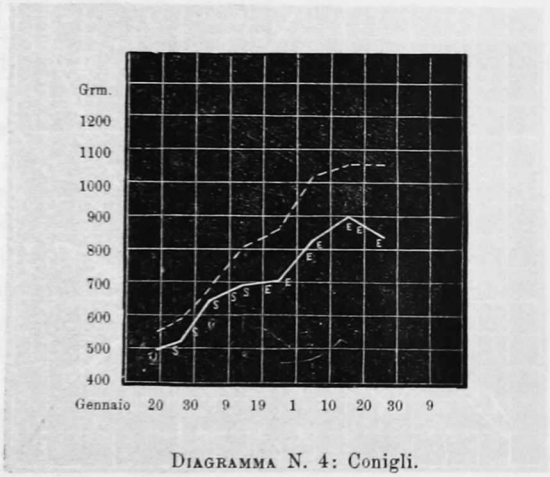

Diagramma N. 4: Conigli.

La linea continua rappresenta l'accrescimento in peso di un coniglio di sesso maschile sottoposto al trattamento ipofisario durante 60 giorni. S = Iniezioni sottocutanee di emulsione glicerico-acquosa d'ipofisi d'agnello. E = Iniezioni endoperitoneali della stessa emulsione. La linea tratteggiata rappresenta l'accrescimento in peso d'un coniglio di sesso maschile, nato dalla stessa genitrice, tenuto come controllo.

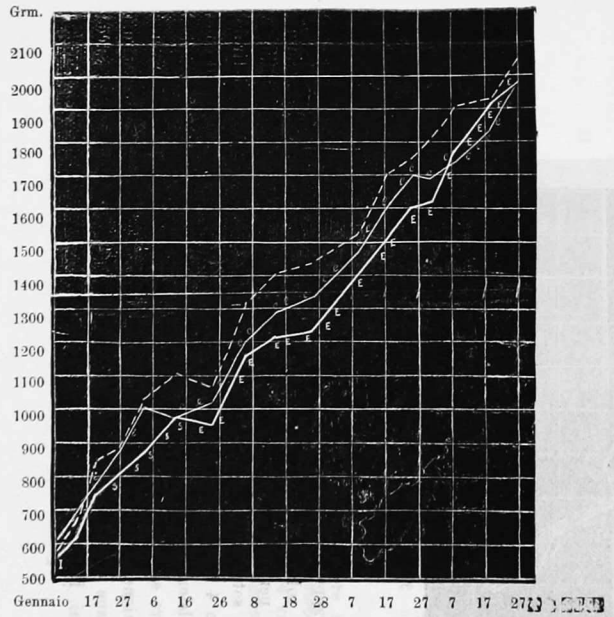

DIAGRAMMA N. 6: Conigli.

Le due linee continue rappresentano l'accrescimento del peso di due conigli di sesso femminile sottoposti al trattamento durante 140 giorni. — I (rispettivamente *i*) = Innesto intraperitoneale d'una ipofisi d'agnello. S = Iniezioni sottocutanee di emulsione glicerico-acquosa d'ipofisi d'agnello. E = (rispettivamente *e*) = Iniezioni endoperitoneali della stessa emulsione. La linea tratteggiata rappresenta l'accrescimento del peso d'un coniglio di sesso femminile, nato dalla stessa genitrice dei precedenti, tenuto per controllo.

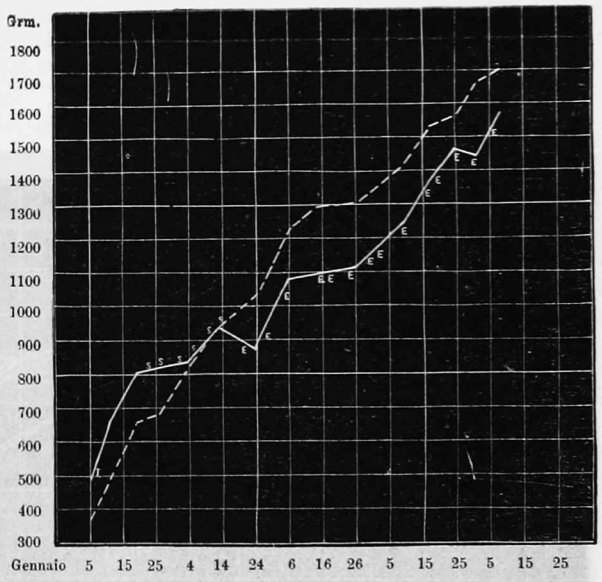

DIAGRAMMA N. 5: Conigli.

La linea continua rappresenta l'accrescimento del peso d'un coniglio di sesso maschile sottoposto al trattamento ipofisario durante 123 giorni. — I = Innesto intraperitoneale di una ipofisi d'agnello. S = Iniezioni sottocutanee di emulsione glicerico-acquosa d'ipofisi d'agnello. E = Iniezioni endoperitoneali della stessa emulsione. La linea tratteggiata rappresenta l'aumento del peso d'un coniglio di sesso maschile, nato dalla stessa genitrice e tenuto per controllo.

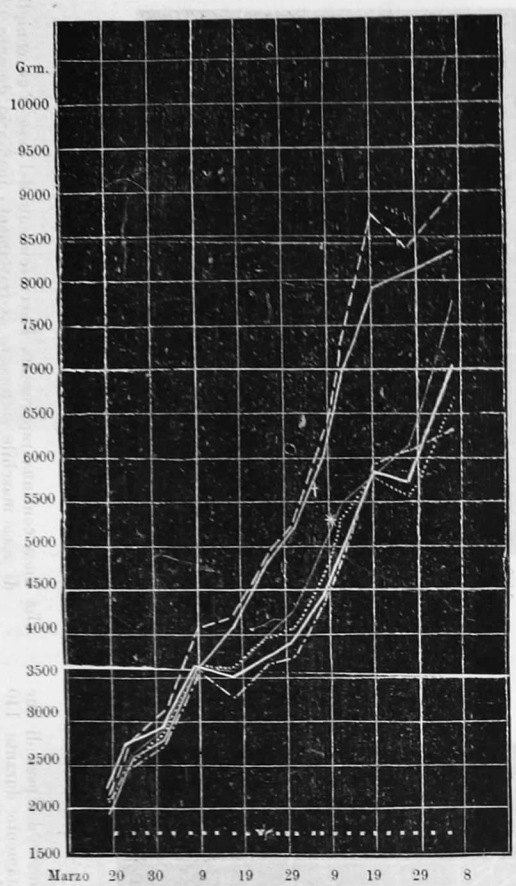

Diagramma N. 7: Cani.

La linea tratteggiata rappresenta il peso del cane B, controllo, sottoposto ad iniezioni endoperitoneali di soluzione fisiologica con l'aggiunta di glicerina. Il tracciato a punti e linee, che per i primi 50 giorni si mantiene più basso di tutti, indica il peso del cane D, sottoposto ad iniezioni endoperitoneali di emulsione di tiroide d'agnello. Le altre 4 linee indicano il peso dei 4 cani sottoposti ad iniezioni endoperitoneali di emulsione d'ipofisi d'agnello. La linea continua più grossa si riferisce al maschio; le altre alle femmine. La croce indica che da quel giorno il cane venne sottoposto all'iniezione di doppia quantità d'emulsione. L'asterisco, che si cessarono le iniezioni nel cane corrispondente. I piccoli quadrati in basso indicano il succedersi delle iniezioni. Durata dell'esperimento: 78 giorni.

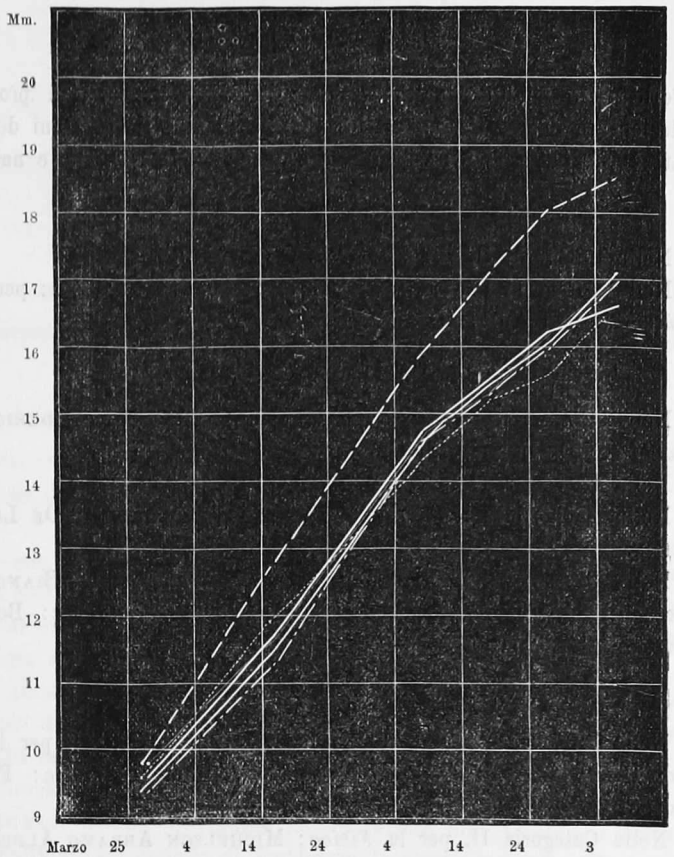

Diagramma N. 8: Cani.

Indica l'accrescimento in millimetri della gamba posteriore dei cani, di cui nel diagramma 7. La linea tratteggiata che più sale, si riferisce al cane di controllo B. Le altre linee si riferiscono ai restanti 5 cani, di cui 4 vengono sottoposti ad iniezioni endoperitoneali d'emulsione d'ipofisi e uno ad iniezioni d'emulsione di tiroide (tracciato a punti e linee).