

ATTI  
DELLA  
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCXIII.

1916

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXV.

1° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1916

Biologia. — *Influenza della temperatura sull'azione della tiroide sui girini*<sup>(1)</sup>. Nota di GIULIO COTRONEI, presentata dal Socio B. GRASSI.

In precedenti esperimenti sull'azione della tiroide di mammiferi sui girini di *Rana esculenta* e di *Bufo vulgaris*, ebbi modo di osservare che sul *Bufo vulgaris* essa era assai meno intensa. Continuando però a lavorare su larve di *Bufo* sviluppatesi da uova deposte più tardi, osservai che l'azione della tiroide si manifestava più rapidamente e più intensamente: così che nel 1° lavoro pubblicato nel 1913, io dissi che la tiroide dei mammiferi agiva stimolando la fase di metamorfosi tanto nelle Rane come nei Bufi; non v'era quindi un'azione differente per le differenti specie. Più tardi, nel 1914, leggendo il 2° lavoro di Gudernatsch, notai che l'autore ricordava l'azione meno rapida della tiroide sui Bufi. Era però evidente per me che avevo seguito gli esperimenti sia durante mesi in cui la temperatura era bassa sia su larve tardive, quando la temperatura andava elevandosi, che la differenza dei risultati era dovuta alle condizioni sperimentali: e dalle osservazioni comparative io fui indotto naturalmente a pensare al fattore temperatura e a valermi dell'esperimento diretto per accertare la verità della mia induzione.

Ho voluto pertanto valermi per i miei esperimenti di larve di *Rana esculenta* approfittando della circostanza di avere ottenuto, in quest'anno, larve ibernanti in gran numero. In tal maniera mi si dava contemporaneamente il modo di studiare sperimentalmente un problema biologico molto interessante: quello dell'*ibernazione*; e inoltre, allo scopo di risparmiare esperimenti, mi si dava il modo di trattare anche un altro problema<sup>(2)</sup>: verificare, cioè, se la tiroide dei vari vertebrati si comportasse ugualmente; perciò io ho esperimentato con tiroide di uccelli (di preferenza polli).

10 novembre 1915. — I vari lotti di larve, sulle quali ho esperimentato differenti nutrizioni (crostacei, molluschi, carne di bue, tuorlo d'uovo, albumina di uovo ecc.), si possono considerare come in via d'*ibernazione*; giacchè non s'iniziano più fasi di metamorfosi.

(1) Lavoro eseguito nell'Istituto di anatomia comparata della R. Università di Roma.

(2) Ricordo a tal proposito che il prof. Giacomini ha già pubblicato che la tiroide della *Rana esculenta* produce la metamorfosi se data come nutrimento alle larve della stessa specie: Giacomini E. Società Medica Chirurgica di Bologna. Adunanza del 3 dicembre 1914.

Mi valgo di una larva di *Rana esculenta* giunta al termine della fase di accrescimento larvale, con gli arti posteriori completamente sviluppati e differenziati, proveniente da un lotto nutrito con *Squilla mantis* (nutrizione che mi si è dimostrata favorevole all'accrescimento larvale); e di un'altra larva della stessa età, nutrita con gasteropodi (*Helix*) (nutrizione questa che mi si è dimostrata invece assai poco favorevole all'accrescimento e a produrre la fase di metamorfosi: la larva si presenta infatti assai indietro nello sviluppo; piccola, e con gli arti posteriori appena accennati). Alle due larve, tenute alla temperatura della stanza, somministro tiroide di pollo dal giorno 10 novembre: osservo che la tiroide viene mangiata, e me ne accerto constatando la presenza delle fecce.

12 novembre. — Inizio l'esperimento di controllo. Per poter verificare l'andamento sperimentale, mi servo di una larva di *Rana esculenta* la quale, sebbene sia stata nutrita con *Squilla*, tuttavia presenta l'abbozzo degli arti posteriori di qualche millimetro soltanto (variazioni individuali); la larva vien messa in una vaschetta, tenuta in stufa alla temperatura di 25°-27°, e le viene somministrata tiroide di pollo (1).

Questa larva, nutrita a caldo, si mostra dopo pochi giorni già avanti nello sviluppo: il 22 novembre, giorno in cui questa larva muore (essendo stata colpita per errore con un taglio di forbici nel tagliuzzare la tiroide), essa presenta l'apparato digerente in gran parte trasformato e gli arti posteriori notevolmente differenziati, per quanto non corrispondenti allo stato dell'apparato digerente (Cotronei, *Disarmonia prodotta dalla nutrizione con tiroide*).

22 novembre. — I controlli, tenuti a temperatura più bassa (quella della stanza), non mostrano modificazioni apprezzabili, per quanto abbiano continuato a mangiare tiroide: nemmeno la larva che era molto avanti nello sviluppo riesce ad emettere gli arti anteriori.

24 novembre. — Siccome l'esperimento a caldo, per quanto mostri già l'influenza della temperatura, non è completo, lo ripeto con un'altra larva dello stesso lotto della precedente (nutrita da prima con *Squilla*). È presso a poco nelle stesse condizioni di sviluppo; soltanto ha gli arti posteriori un po' più avanti. Le somministro da questo giorno tiroide di pollo.

5 dicembre. — La larva che è stata tenuta in stufa alla temperatura di 25°-27°, viene trovata morta: ma ha emesso l'arto anteriore sinistro; l'apparato digerente si mostra molto progredito nelle sue trasformazioni; anche gli arti posteriori si presentano notevolmente differenziati, ma non completamente; la coda mostra una condizione di atrofia, ma non di assorbimento.

(1) Il riscaldamento dell'animale sia graduale. Avverto pure che 27° è un massimo non la media dei miei esperimenti.

I controlli, tenuti a temperatura più bassa, non mostrano di essersi modificati, tranne l'abbozzo più evidente degli arti posteriori nella larva più piccola.

25 dicembre. — La larva più piccola, tenuta a freddo, muore; presenta ora gli arti posteriori con l'abbozzo del piede; non ha emesso arti anteriori; le condizioni dell'apparato digerente sono evidentemente più arretrate che non nelle larve tenute a caldo. Osservo tuttavia che i controlli nelle stesse condizioni di temperatura (a freddo), ai quali ho continuato a somministrare *Helix*, sono ancora più arretrati.

L'altra larva tenuta a freddo, ma che all'inizio dell'esperimento già era molto sviluppata, tanto che pareva pronta alla metamorfosi, non ha emesso gli arti anteriori nemmeno al momento in cui scrivo (31 dicembre). Da parecchi giorni noto che non ha più mangiato, per evidente influenza del freddo.

Da questi esperimenti risulta in modo evidente:

1°) la tiroide degli uccelli agisce come la tiroide dei mammiferi nell'accelerare lo sviluppo larvale, producendo la metamorfosi;

2°) questa stessa azione si manifesta quindi anche nel produrre una azione disarmonica (<sup>1</sup>).

3°) la temperatura elevata, compatibile con la vita delle larve, favorisce, accelerandola, l'azione della tiroide, mentre le basse temperature hanno un'azione contraria: ciò spiega perchè in pieno estate gli esperimenti con larve di *Rana esculenta* sono più evidenti e più rapidi di quelli fatti con larve di *Bufo vulgaris*, le cui uova vengono di solito deposte qui a Roma in inverno;

4°) tutto m'induce a pensare che le larve ibernanti (quelle sulle quali non ho esperimentato con tiroide) non entrano in fase di metamorfosi perchè il secreto tiroideo, trattandosi di animali a sangue freddo, si trova in condizione da non poter più attivare il metabolismo organico per condizioni di temperatura; per lo meno l'influenza della tiroide dell'animale ha in questi casi un'importanza preponderante. Gli esperimenti con larve ibernanti tuttavia continuano.

Questi esperimenti sopra riassunti erano già stati compiuti (come dimostra il diario) e i risultati già ottenuti, quando mi giunge proprio in questi giorni, mentre scrivo la presente Nota, il fascicolo n. 6 del « Journal of experimental medicine » edito a New-York con data 1° dicembre 1915. Tale fascicolo contiene un lavoro del Lenhart; ed in un breve paragrafo si descrive

(<sup>1</sup>) Fa d'uopo tener presente che negli esperimenti da me eseguiti si è somministrata tiroide in eccesso: la disarmonia da me descritta va riferita sempre in relazione di questa circostanza: ulteriori esperimenti diranno i risultati di modificate condizioni sperimentali: risultati che solo per eccesso di prudenza non formulo.

l'influenza inibitrice del freddo sull'azione della tiroide. Questo risultato concorda con quelli da me indipendentemente raggiunti e sopra riferiti: l'autore, invece di valersi di larve ibernanti, ha operato nella stagione calda e ha sperimentato su larve tenute sperimentalmente a più bassa temperatura, in un refrigerante.

Citando il lavoro del Lenhart, io noto con sorpresa che l'autore non conosce i miei precedenti lavori sull'argomento <sup>(1)</sup>, recensionati in molti periodici, anche stranieri, e già entrati nella letteratura scientifica sull'argomento; e la mia sorpresa è tanto più legittima, in quanto l'autore avrebbe trovato nei miei lavori (1913 e 1914) idee che collimano appunto con le sue.

Il Lenhart asserisce che i risultati che la tiroide manifesta sulle larve di Anuri non devono essere considerati come una « new action of thyroid but in its application to a living organism at a specific time in its development »; riferisce poi i risultati a un effetto sul metabolismo generale.

Che cosa mi sono proposto io? Nel 1913 ho appunto tracciato le varie ipotesi di lavoro, asserendo che bisognava considerare l'effetto della tiroide sui girini tenendo presente i noti risultati che lo studio della tiroide aveva già dati. Soprattutto nel 1914 ho chiaramente riferito i risultati, ottenuti su gli anfibî, a fenomeni dello stesso ordine ottenuti sperimentalmente, e anche in condizioni patologiche, sui mammiferi. Non ho parlato in modo vago; ma mi son richiamato a risultati concreti. Ho tenuto presente che nel progredire dell'età delle larve, ossia invecchiando, la percentuale in acqua diminuisce; e ho ricordato comparativamente già noti effetti della tiroide (perdita d'acqua, influenza sui fenomeni d'ossidazione ecc.). Ho infine fatto notare implicitamente che se si avevano effetti che parevano differenti, ciò era perchè noi sperimentavamo con organismi che avevano un proprio ciclo di sviluppo; sperimentalmente mettevamo le larve nelle condizioni biologiche della metamorfosi (perdita d'acqua, ad es.): le avevamo cioè invecchiate, e quindi subentrava la fase propria del ciclo di quei dati organismi, sui quali avevamo sperimentato.

Fin dal 1913 ho poi riferito un reperto molto importante: il poco sviluppo dei corpi grassi delle larve di Rane, nutrite con eccesso di tiroide. Questo reperto, in confronto con i controlli, sta ad indicarci il maggior consumo che induce la tiroide: in conseguenza risulteranno più attivi fenomeni di ossidazione: come prodotto di combustione finale si dovrà ottenere acqua e anidride carbonica: è probabile che sia questo il meccanismo della perdita d'acqua nei tessuti.

Io ho pensato dunque che la tiroide produca sul ricambio generale effetti tali che in condizioni normali coincidono con la fase di metamorfosi:

(1) Cotronei G., *Bios* vol. 2°, fasc. 1°, Estratto pubblicato nel 1913 e Rendiconti R. Acc. Lincei, vol. 23, 1914.

e per esempio concreto ho pensato alla perdita d'acqua, che si riscontra nell'invecchiamento delle larve.

Evidentemente a qualche cosa di simile pensa ora, dopo circa due anni, il Lenhart, per quanto non abbia riferito nessuna considerazione veramente nuova; è inutile quindi che io insista in una vana questione di priorità che sarebbe superflua.

Il Lenhart mostra di combattere il concetto del Gudernatsch che la tiroide agisca attivando i fenomeni di differenziazione. A tal proposito io ricordo che E. A. Schäfer (1912), alimentando ratti, in via di sviluppo, con pane e latte insieme con poca quantità di organi a secrezione interna, trovò un'azione lievemente acceleratrice per quelli nutriti con un po' di tiroide. I risultati sono dunque della stessa natura di quelli ottenuti negli anfibî; e io sono propenso a pensare che se si fosse sperimentato con una quantità di tiroide maggiore i risultati sarebbero stati ancora più evidenti.

Questa considerazione comparativa non è superflua; essa serve a convalidare il concetto che si tratti di fenomeni di natura identica tanto sui mammiferi quanto sugli anfibî, perchè si tratta di fenomeni riguardanti il metabolismo organico.

Io penso che la tiroide acceleri la vita larvale, perchè accelera il metabolismo organico; ma questi fenomeni a loro volta accelerano le differenziazioni.

In linea generale, la differenziazione non si verifica forse col progredire dell'età di un determinato tessuto, di un organo, di un embrione?

Ora, se la tiroide, stimolando il metabolismo organico, induce un dato tessuto a un consumo più vivo e con fenomeni di ossidazione più intensi, non è certamente errato il ritenere che essa faccia vivere, per così dire, più rapidamente queste determinate cellule e le faccia quindi invecchiare più rapidamente; e se nel divenire di un determinato gruppo cellulare è implicita la condizione di una ulteriore differenziazione, è intuitivo che l'azione della tiroide debba accelerare tale processo.

Questi concetti conducono (in relazione a quanto ho espresso nel 1914) a considerare la fase di metamorfosi come una fase di senescenza di un determinato periodo di un ciclo biologico.

Questa conclusione mi risulta avvalorata da tutti i moderni studi sperimentali. In effetto noi sappiamo che, col progredire dell'età, la percentuale di acqua di un organismo diminuisce: i tessuti giovani, al momento di massima intensità vitale, sono più ricchi in acqua; anche nel feto umano si attraversa un periodo nel quale si ha una quantità di acqua enormemente superiore a quella presente in qualunque altro momento della vita. Nei vecchi la percentuale in acqua è molto minore: accelerando la vita, vivendo cioè più intensamente, è chiaro che l'organismo si troverà nelle condizioni dell'impoverimento in acqua (è appunto il caso della metamorfosi degli

Anuri). La larva a un dato momento è vecchia per le proprie condizioni biologiche (relazione tra l'ambiente interno e l'ambiente esterno): ed allora con la metamorfosi inizia una nuova vita, con rinnovate condizioni morfologiche e biologiche.

\*  
\* \* \*

A questo concetto della senescenza larvale si collegano intimamente le osservazioni fatte sull'azione della temperatura.

Van't Hoff ha con l'esperimento dimostrato che a parità delle altre condizioni la velocità delle reazioni chimiche aumenta in modo determinato (del doppio o del triplo) per ogni dieci gradi di temperatura.

La formula di Van't Hoff è la seguente:

$$Q_{10} = 10 \frac{10(\log. K_1 - \log. K_2)}{t_1 - t_2},$$

in cui  $Q_{10}$  indica il coefficiente della temperatura, e  $K_1$  e  $K_2$  indicano le velocità della reazione chimica alle due temperature  $t_1$  e  $t_2$ .

Si noti però che tale legge si verifica soltanto per un certo intervallo di temperatura, che per alcune reazioni chimiche si estende sino a 300°.

La legge di Van't Hoff è stata trasportata nel campo biologico; e in relazione alle mie ricerche mi interessa di ricordare che il Galeotti e la sua scuola hanno dimostrato, studiando l'influenza della temperatura sul ricambio, che per ogni aumento di temperatura di dieci gradi la energia di consumo si raddoppia: è una brillante verifica sperimentale nel campo biologico della legge di Van't Hoff.

Il Boeri <sup>(1)</sup> ha inoltre riferito a questa legge il comportamento delle funzioni organiche nell'ipertermia, considerata negli animali artificialmente riscaldati; ed aggiunge: « Forse la precocità dei paesi caldi, il raccorciamento della stessa vita, obbediscono all'aumento della velocità delle reazioni chimiche disciplinato dall'equazione di Van't Hoff ».

Quanto precede entra nello stesso ordine di considerazioni dianzi esposte. Voglio ora deliberatamente prescindere dal discutere se la legge di Van't Hoff si verifichi matematicamente e sempre nei fenomeni organici: è probabile che in moltissimi casi la verifica, per condizioni sperimentali troppo complicate, debba sfuggire al controllo. Mi basta una considerazione che qui non cade dubbio; l'aumento di temperatura fino a determinati limiti si manifesta (qualunque sia la sua legge matematica) con un aumento di consumo.

Tenendo anche presenti i concetti del Rubner sulla quantità di energia che si consuma per dati periodi organici, noi vediamo chiaramente (quasi direi con intuitiva evidenza) come l'azione della tiroide e quella di un aumento

<sup>(1)</sup> Boeri G., Relazione su « La febbre dal punto di vista clinico » al 22° Congresso di Medicina interna (1912), Roma 1913.

di temperatura siano concomitanti: la tiroide, producendo un maggiore consumo di energia, produce un rapido invecchiamento della larva, ossia accelera i fenomeni di differenziazione e conduce dunque più presto alla fine del periodo larvale, facendo vivere la larva con maggiore intensità: *la metamorfosi si può considerare un termine fisso da raggiungere dopo un determinato consumo delle energie cellulari.*

Le temperature più alte (compatibili con la vita delle larve) manifestano a loro volta un'azione acceleratrice della fase di metamorfosi e dello sviluppo in generale, come ogni cultore di biologia sa: ma è noto che l'aumento di temperatura produce un aumento di consumo (Galeotti), onde io ne arguisco che è per l'aumentato consumo che si determina l'accelerazione della fase di metamorfosi.

Nella vita di un organismo il tempo non rappresenta la vecchiaia: la vecchiaia è in relazione con il consumo. Una macchina qualunque, che abbia lavorato meno intensamente, presumibilmente durerà più a lungo: quasi diremmo, ha una vita più lunga.

La tiroide agisce nella vita larvale degli Anuri in maniera che per l'aumentato metabolismo ricorda l'azione di un aumento di temperatura: è naturale che, sommando l'azione della tiroide e quella di un aumento di temperatura, gli effetti biologici vengano cumulati, ed è anche naturale che le temperature più basse, diminuendo il consumo e l'attività organica, ostacolino l'azione della tiroide.

Anche i fenomeni della disarmonia, da me descritti in precedenti ricerche, rientrano nello stesso ordine di idee. È lecito supporre che la condizione armonica dello sviluppo è una condizione di equilibrio ormonico; e che questo concetto non sia azzardato, io sono autorizzato a ritenerlo dai risultati dei miei esperimenti. In effetto, nutrendo con tiroide le larve di rana, io ho somministrato un eccesso di ormone (o ormoni) tiroideo: ho quindi evidentemente squilibrato l'armonia umorale. E questo squilibrio è tanto maggiore, quanto maggiore è la quantità di tiroide ingerita; e per gli effetti morfologici ancora tanto maggiore quanto più giovane è la larva in esperimento. Tale disarmonia si può spiegare col maggior consumo prodotto dalla tiroide: la tiroide somministrata alla larva, entrata in circolo in quantità non corrispondente alla condizione del suo sviluppo, agisce su tutti gli apparati organici e quindi stimola le energie di consumo di tutte le cellule; tutte entrano in attività maggiore, anche quelle che per l'armonia umorale e morfologica dovrebbero aspettare un maggiore sviluppo di altri organi. Ecco le ragioni per cui la fase di metamorfosi si manifesta disarmonica: ragioni di tempo e di eccesso di una secrezione interna.