

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA NAZIONALE
DEI LINCEI

ANNO CCCXX
1923

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXXII.

2° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1923

Fisiologia comparata. — *Ulteriori osservazioni sull'influenza della tiroide sullo sviluppo degli Insetti* ⁽¹⁾. Nota del dott. G. CONTRONI, presentata dal Socio B. GRASSI ⁽²⁾.

Nel 1918 ⁽³⁾ ho pubblicato alcune esperienze (compiute nel 1916) sull'influenza della nutrizione con tiroide di mammiferi su larve di mosche (e sul baco da seta) in cui dimostrovo che in tali casi non si accelera lo sviluppo larvale e la metamorfosi, non avviene cioè quanto si verifica negli Anfibi. Per quanto fin da allora io avvertissi della necessità di più estese ricerche e non avessi abbandonato del tutto l'argomento, pure finora non ho più nulla pubblicato in proposito, mentre altri autori, specialmente tedeschi, hanno impresso a studiare il grave argomento dell'influenza delle secrezioni interne dei Vertebrati sugli Invertebrati.

Volendo riferire lo stato attuale della questione debbo innanzi tutto citare due lavori americani comparsi durante la guerra, uno di Northrop ⁽⁴⁾ (1917) e uno di Kunkel ⁽⁵⁾ (1918), comparso quasi contemporaneamente al mio.

Northrop nel suo lavoro s'è proposto di studiare l'influenza dei fattori accessori (vitamine) nello sviluppo larvale della *Drosophila* e ha riferito brevemente sull'influenza di tessuti animali, fra cui tiroide, di mammiferi, che somministrava dopo un trattamento di sterilizzazione. Ha notato che alcuni tessuti sono in tal modo nutrizioni inadeguate e dice in blocco (pag. 186): « Spleen, heart muscle, muscle, blood, adrenal, and thyroid from the dog were insufficient... » ecc., ciò però non avviene per il fegato, pancreas e rene e aggiunge: « It is possible that the negative results in the case of some of the tissues may be due in part to sterilization », per quanto rimanga difficile a spiegare il diverso comportamento di altri tessuti. Northrop aggiunge ancora: « The larvae grew normally on any of the tissues when they were infected with bacteria », e poco dopo: « the bacteria merely served to furnish the accessory substances » ⁽⁶⁾.

Da queste esperienze si deduce che Northrop dopo un processo di sterilizzazione ha reso inadeguate allo sviluppo delle nutrizioni fatte con alcuni

⁽¹⁾ Lavoro eseguito nell'Istituto d'anatomia e fisiologia comparate della R. Università di Roma.

⁽²⁾ Pervenuta all'Accademia il 21 settembre 1923.

⁽³⁾ Questo periodico, vol. XXVII, 2° semestre, pag. 376, 1918.

⁽⁴⁾ Journ. Biol. Chemistry, vol. 30, pag. 171, 1917.

⁽⁵⁾ Journ. Exper. Zoology, vol. 26, pag. 255, 1918.

⁽⁶⁾ Il corsivo non è dell'autore.

tessuti animali fra cui tiroide, e che se in queste nutrizioni già sterilizzate sono presenti i batteri, lo sviluppo è normale perchè le sostanze accessorie è da pensare siano contenute nei batteri. Queste esperienze adunque non hanno dato, per il modo come sono state condotte e riferite, alcuna reale dimostrazione della nessuna azione della tiroide come ormone. Non ha quindi valore dimostrativo l'affermazione contenuta in un lavoro successivo di Loeb e Northrop⁽¹⁾: « Experiments made by Nortrop show that thyroid has no influence on metamorphosis in the fly », dal momento che gli autori si riferiscono, citandolo, proprio al lavoro ora riassunto, e non a ricerche inedite che si potrebbe presumere condotte diversamente e più dirette allo scopo.

Si può invece pensare che gli autori diano a « no influence » un senso assoluto riferendosi proprio alla frase del lavoro precedente in cui si asserisce che la tiroide sterilizzata non fa andare in metamorfosi le larve di *Drosophila*.

Tanto il lavoro di Kunkel quanto il mio, pur giungendo a risultati opposti, sono completamente differenti da quello di Northrop.

Entrambi abbiamo operato con un materiale più adatto, ossia le larve di *Muscidae* che vivono sulla carne, entrambi abbiamo valutato i nostri risultati non perchè la tiroide non faccia andare in metamorfosi le larve, ma dalla rapidità, giudicata comparativamente con nutrizioni di controllo, dei vari periodi della vita larvale e pupale. Mentre Kunkel dice che si verifica nei *Muscidae* la stessa azione (per la tiroide) dimostrata negli Anfibi, io ho affermato che quest'azione non si verifica, *documentando* l'asserzione con i protocolli degli esperimenti.

L'importante è di stabilire quale delle due opinioni viene suffragata dalla recente letteratura ed è rispondente alla realtà dei fatti.

Abderhalden (1919)⁽²⁾ nello sviluppo di una farfalla *Deilephila euphorbiae* tende ad ammettere, ma in una forma molto incerta, l'influenza della tiroide.

Romeis e Dobkiewicz (1920)⁽³⁾ sulla *Calliphora vomitoria* giungono a conclusioni che sono conferme delle mie.

Kahn (1921)⁽⁴⁾ esperimentando con tiroide sulle larve di *Corethra plumicornis*, *Ecdyrus forcipula*, *Tenebrio molitor*, conclude in una maniera molto esplicita: « Die bei Fütterung von Vertebratenlarven so charakteristische Wirkung auf Wachstum und Differenzierung tritt bei Avertebraten nicht ein ».

La De Vecchi (1920)⁽⁵⁾ mentre ammette nei Cyclops l'azione positiva della tiroide, dice che le sue esperienze su *Calliphora erythrocephala* « confermano i risultati di Cotronei contrari a quelli di Kunkel ».

(1) Journ. Biol. Chemistry, vol. 32, pag. 103, 1917.

(2) Pflügers Archiv. ges. Physiologie, Bd. 176, pag. 236, 1919.

(3) Arch. f. Entwic. Mec., Bd. 47, pag. 119, 1920.

(4) Pflügers Archiv ges. Physiologie, Bd. 192, pag. 81, 1921.

(5) Arch. di Fisiologia, 1920.

Van Herwerden (1922) ⁽¹⁾ mentre dichiara che la parte corticale delle capsule surrenali stimola lo sviluppo della *Daphnia pulex*, aggiunge « in einer Weise, wie weder ähnliche Quantitäten Schilddrüse, Hypophysis (pars anterior), noch Nebennierenmark zu tun vermögen ».

Sui Protozoi, invece, si hanno risultati positivi. Già Nowikoff ⁽²⁾ nel 1908 dimostrò che la tiroide stimola i processi di divisione dei Parameci. Questi risultati sono stati confermati da Shumway ⁽³⁾ (1914 e 1917) e da Budington e Harvey ⁽⁴⁾ (1915).

Da quanto precede risulta che mentre sono ampiamente confermati i miei risultati, vi sono opinioni contraddittorie per altri Metazoi invertebrati. Sono invece positivi i risultati sui Protozoi.

È dunque necessario riprendere *caso per caso* lo studio sui Metazoi invertebrati. Il presupposto teorico che mi spinge alle presenti ricerche è che la tiroide giunga nell'organismo (delle larve di mosche) già resa inattiva. Tale presupposto trova potente appoggio nell'accertamento di E. C. Kendal (1919) ⁽⁵⁾ che « Deamination and decarboxylation by bacteria are well known, and it seems highly probable that some samples of desiccated thyroid are without therapeutic value because of bacterial decomposition ».

Nelle mie ricerche mi propongo di verificare tre ipotesi di lavoro:

1°) Le larve di mosche assumono la tiroide di Vertebrati quando essa è già divenuta inattiva: ciò può dipendere sia per un'azione diretta delle larve sul nutrimento, sia per un'azione dei microrganismi (della putrefazione), sia per le due cause insieme combinate;

2°) La tiroide penetra nell'intestino in condizione ancora attiva, ma viene resa inattiva dagli enzimi intestinali;

3°) Le sostanze tiroidee assorbite non agiscono sull'organismo.

Per verificare la 1^a ipotesi ho pensato che se la tiroide vien resa esternamente inattiva per azione diretta delle stesse larve (ad opera di sostanze da esse secrete o escrete) che vivono sul nutrimento, se io dopo qualche tempo do la poltiglia di tiroide come nutrimento a girini di Rana, non dovrei più notare l'azione acceleratrice sulla metamorfosi. A tal uopo mi son valso di tiroide di bua che davo come nutrimento a larve di Mosche (quasi sempre *Lucilia caesar*) e ho notato che la poltiglia di tiroide al 2° e 3° giorno di esperimento era ancora attiva sui girini di Rana. (Ho reputato inutile protrarre il tempo di esperienza, perchè si corre rischio di non sperimentare più con la parte glandulare e quindi d'interpretare male un risultato negativo). Questa esperienza dimostra che le larve di mosche

(1) Biolog. Zentral., Bd. 42, pag. 109, 1922.

(2) Arch. f. Prot. Bd. 11, 1908.

(3) Journ. Exp. Zool., vol. 17, 1914; e Journ. Exp. Zool., vol. 22, 1917.

(4) Biol. Bull., vol. 28, 1915.

(5) Journ. of Biolog. Chemistry, vol. 39, pag. 125, 1919.

non hanno nessun'azione diretta nella trasformazione inattiva della tiroide; tuttavia nell'esperienza precedente non si è eliminata l'azione eventuale dei batteri della putrefazione e pure non risulterebbe quest'azione disintegratrice che renderebbe inattiva la tiroide, come io ho motivo di sospettare. Procediamo, pertanto, più direttamente. È ben noto che le larve di *Muscidae* si nutrono di carne quando in questa cominciano i processi putrefattivi. Per la tiroide io noto che se adoperiamo tiroide molto fresca le larve di mosca non vengono subito attirate, ma solo, almeno così debbo presumere, quando cominciano i processi di decomposizione. Per verificare questa parte dell'ipotesi prospettata mi valgo dello stesso metodo sperimentale. Taglio la tiroide a piccoli pezzi che metto sul fondo di un vaso di vetro, in modo che i pezzi non si sovrappongano e siano a contatto dell'aria. Copro il vaso di vetro per non farvi penetrare larve di mosche (1). Quando i pezzi sono divenuti bianchi e si manifesta il processo di liquefazione — colliquazione — (dal 3° al 7° giorno) (2) somministro la poltiglia così decomposta a girini di Rana. Ho notato che la poltiglia produceva ancora l'azione acceleratrice sulla metamorfosi. Debbo subito rilevare che in tutti questi esperimenti ho notato che *sempre* erano rimasti dei pezzi di tiroide abbastanza compatti e quindi non completamente decomposti.

Ho ritenuto inutile insistere con un tempo più lungo, perchè evidentemente non ci troveremmo più nelle condizioni biologiche che si verificano nella nutrizione delle larve.

L'esperienza ora esposta va più addentro valutata criticamente. Io avrei certo avuto risultati più decisivi se avessi raccolta la parte di tiroide che si veniva successivamente liquefacendo, perchè si può facilmente presumere che le larve si nutrono soltanto della parte di tiroide liquefatta, ossia più a contatto dell'aria e che ha subito più rapidamente una scomposizione di maggior grado. (Esperienze in tal senso sono state da me tentate ma non sono facili e vanno ripetute e modificate). Nelle esperienze che ho esposto non si può eliminare il dubbio (3) che la parte decomposta e resa presumibilmente inattiva dai batteri rimanendo ancora a contatto con la residuale poltiglia si ricombini in una forma che è di nuovo attiva. Io dunque, per ora almeno, non posso rinnegare la mia ipotesi di lavoro, e rendo invece responsabile del risultato la tecnica sperimentale finora adoperata.

Un'altra via di verifica indiretta potrebbe essere la seguente. Ammesso che i tessuti animali fortemente iodati sono più resistenti alla decomposizione e

(1) Cerco anche di impedire il disseccamento mantenendo l'ambiente umido.

(2) Tutte queste esperienze sono state fatte in estate.

(3) Il dubbio che ci sia una nuova ricombinazione chimica ci si può prospettare anche nell'ammettere un'azione diretta delle larve, però in tal caso bisogna rilevare che le esperienze condotte per un tempo più breve, tendono a dare a tal dubbio assai minor valore.

ammesso, cosa che ancora non so, che le larve di mosche possano nutrirsi di tali tessuti, se avessimo risultati positivi sull'acceleramento larvale delle mosche potremmo pensare a interpretare nel senso della mia ipotesi i risultati negativi descritti nel mio lavoro del 1918.

Per verificare la 2^a ipotesi io mi varrò dello stesso metodo sperimentale: somministrare intestini di larve di *Muscidae* ripieni di tiroide ingerita a larve di anuri e osservare se la metamorfosi di queste ultime viene o no accelerata.

Per la verifica della 3^a ipotesi, nel caso che le prime due siano definitivamente da scartare, ognuno comprende come si va incontro a difficoltà molto maggiori. Potrebbe avere qualche valore la prova che i tessuti delle larve di mosca non si combinano in vitro con l'iodio (o con estratto di tiroide) e quindi dato come nutrimento a girini di anuri non accelerano la metamorfosi. Avverto subito peraltro che i risultati da me avuti in altri Invertebrati mi fanno essere abbastanza scettico su di tale eventuale esperimento negativo.

In conclusione: con la presente Nota io ho indicato le disposizioni sperimentali per verificare, o tentare di verificare, le varie ipotesi che possano spiegare il risultato da me descritto nel 1918, dell'inattività specifica della tiroide sullo sviluppo dei *Muscidae*. Ho dimostrato inoltre che le larve non hanno influenza diretta a modificare esternamente il nutrimento tiroideo, e rimando ad altre Note il risultato delle esperienze nella presente tracciate.

G. C.