

RENDICONTI DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI

Classe di Scienze fisiche, matematiche e naturali.

Estratto dal vol. XXVIII, serie 6^a, 2^o sem., fasc. 1-2 ferie. - Roma, luglio 1938-xvi

Ulteriori ricerche circa l'influenza degli or-
moni sessuali sulla maturazione delle carpe

NOTA

DI

GINA CASTELNUOVO



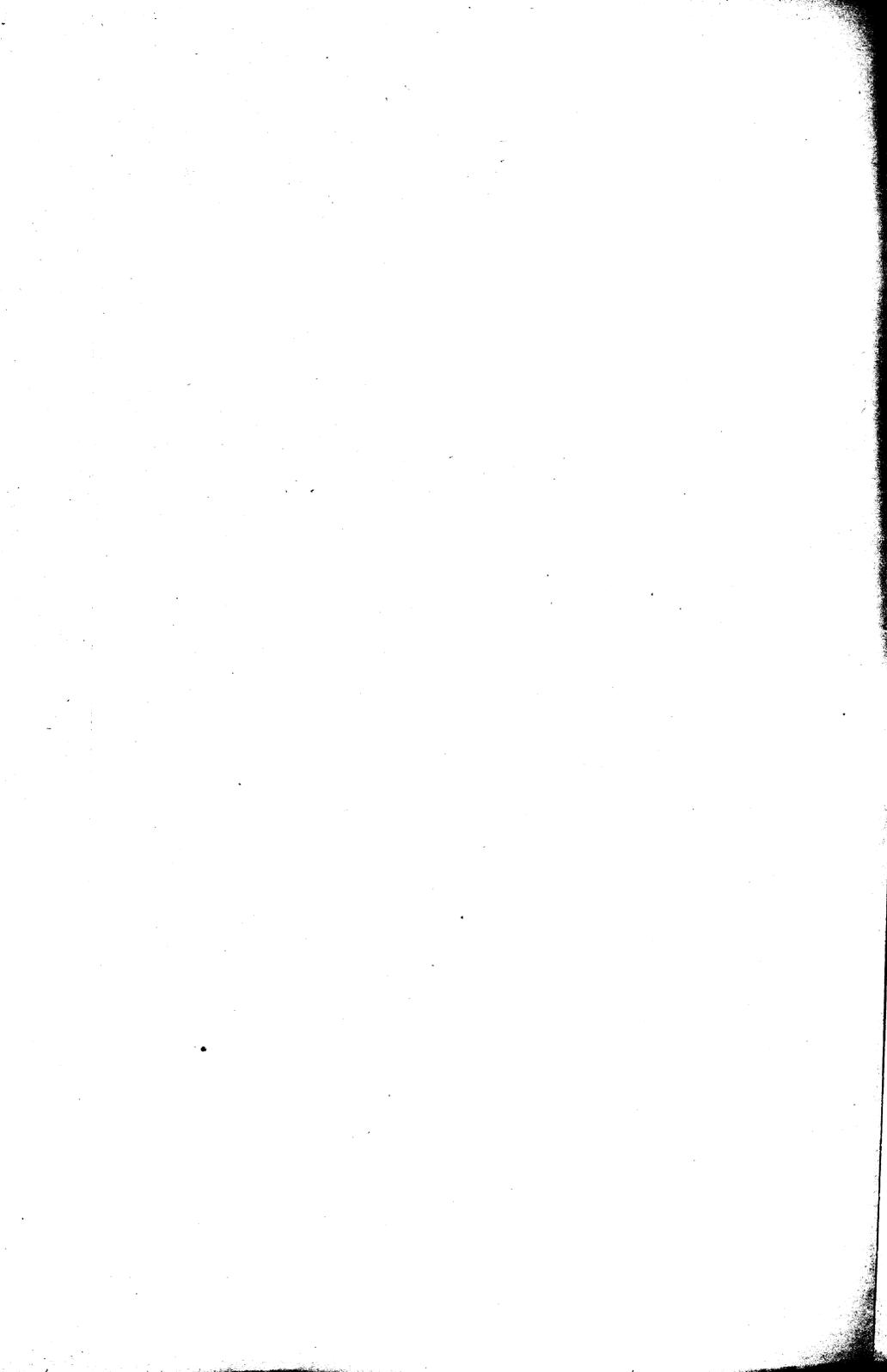
64
B
57
32

ROMA

DOTT. GIOVANNI BARDI

TIPOGRAFO DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI

1938-xvi



Fisiologia. — *Ulteriori ricerche circa l'influenza degli ormoni sessuali sulla maturazione delle carpe.*⁽¹⁾ Nota⁽²⁾ di GINA CASTELNUOVO, presentata dal Corrisp. G. BRUNELLI.

Nel 1937 iniziavo delle esperienze [12] sull'effetto che potevano produrre gli ormoni sessuali e l'ormone gonadotropo introdotti, sull'andamento della spermatogenesi in carpe a specchi di nove mesi. Per quello che si conosce sull'azione in genere di questi ormoni, mi aspettavo di avere un possibile acceleramento della spermatogenesi mediante l'ormone gonadotropo, ma un effetto inibitorio coll'introdurre l'ormone follicolare e l'androsterone. Ora invece ho dovuto constatare, con mia grande sorpresa, che tutte e tre le specie di ormoni introdotti portavano ad un notevole aumento della spermatogenesi rispetto ai controlli, acceleramento reso manifesto dalla presenza di grandi masse di spermii nei tubuli in tempo prematuro. Le esperienze furono eseguite dal mese di marzo al mese di luglio, quindi dall'età di nove mesi in poi. Si adoperò allora come ormone follicolare il *Progynon B oleosum* forte di Schering a 50.000 UI e come ormone maschile l'androsterone dell'Istituto Biochimico Ligure titolato a 1/2 UG per 1 cc. Le quantità introdotte per animale variarono da 5000 UI come minimo a un massimo di 20.000 UI; e per l'androsterone da un minimo di 0.05 di UI a un massimo di 0.40 di UI.

Ho creduto opportuno riprendere durante il 1938 le esperienze, sia adoperando altri prodotti per essere sicura che l'effetto ottenuto non fosse specifico a questi, sia per vedere se col cambiare le quantità introdotte non si venisse ad avere un risultato differente.

Riporto in questa Nota soltanto i primi risultati ottenuti in ricerche preliminari.

Le carpe dal mese di febbraio in poi vennero tenute in acquari sotto acqua corrente, separate in lotti diversi, e tenute per tutto nelle stesse condizioni nelle quali erano tenute per il 1937. Ho usato quest'anno come ormone maschile il propanato di testosterone della Degewop Organon⁽³⁾, (*Neo-Hombracol syntheticum*) in cui un cc contiene 5 mg. di propanato di testosterone. Ora sappiamo che adoperando come test l'accrescimento delle vescicole seminali del ratto o la crescita della cresta di cappone si ha un effetto circa cinque o sette volte maggiore usando il testosterone invece del-

(1) Lavoro eseguito nel R. Laboratorio centrale di Idrobiologia di Roma.

(2) Pervenuta all'Accademia l'8 luglio 1938.

(3) Tengo qui a ringraziare vivamente il dott. Luwisch della Degewop Organon per i prodotti gentilmente fornitimi durante l'esecuzione delle ricerche.

l'androsterone, e siccome d'altra parte sappiamo che unità internazionale dell'androsterone è 0.1 mg., ne deduciamo che 1 mg. di testosterone paragonato sulla cresta di cappono o sulle vescicole seminali di ratto corrisponde a 50-70 UI e quindi 1 cc. di Neo-Hombreol viene a comprendere da 250 a 350 UI.

Ora gli animali che dovevano subire iniezioni di testosterone vennero divisi in tre lotti: un lotto fu costituito da animali che ebbero in tutto 2.5 mg. di testosterone o 875-1225 UI (a seconda che si consideri il rapporto tra androsterone e testosterone essere 5 o 7); un altro lotto di animali venne iniettato col prodotto diluito a metà in modo che ciascun animale ebbe in tutto 1.25 mg. o 437-612.5 UI; un altro lotto infine di animali ebbe a subire quattro iniezioni di 0.1 cc. per volta della soluzione diluita 35 volte in modo che circa 0.1 cc. di questa soluzione veniva a corrispondere a circa 1 UI, venendo quindi ad avere in tutto 0.04 mg., o, 4 UI.

Ora invece gli animali sperimentati nel 1937, anche se iniettati con la dose più forte, non raggiunsero mai 1 UI, ma al massimo 0.40 di UI. Gli animali vennero uccisi circa un mese dopo l'ultima iniezione; i testicoli furono fissati con una soluzione di sublimato acetico e le sezioni furono colorate coll'Ematossilina e l'Eosina.

Vennero iniettati in tutto 109 animali, dei quali soltanto 32 risultarono maschi all'esame microscopico. Di circa 40 animali tenuti come controllo, soltanto 14 risultarono maschi. Di questi, 13 presentarono il testicolo costituito quasi esclusivamente di spermatogonii allo stadio di riposo; uno solo presentò alcuni spermii.

Gli animali invece che ebbero a subire iniezioni di testosterone diedero questi risultati: di 5 animali iniettati con 875 o 1225 UI in tutto, nessuno mostrò alcun acceleramento della spermatogenesi, presentando essi il testicolo molto arretrato, costituito esclusivamente da cellule spermatogoniali; dei 10 animali che ebbero in tutto 612, o, 437 UI, 7 rimasero allo stadio dei controlli e quindi allo stadio di spermatogonii, 2 arrivarono alla formazione di rari spermatidii, e 1 soltanto portò alla formazione di numerosi spermii racchiusi nei tubuli; degli animali poi iniettati con 4 UI, 3 soltanto risultarono maschi, e di questi 2 arrivarono alla formazione di numerosi spermii, mentre uno rimase alla formazione di spermatogonii. Quindi gli animali trattati con la dose più forte di propianato di testosterone non presentarono il minimo segno di acceleramento rispetto ai controlli; in quelli trattati con dosi più deboli (612 UI) si dimostrò esservi una certa possibilità da parte dell'animale a reagire alla sostanza, mentre poi in quelli animali trattati con 4 UI la reazione all'ormone iniettato fu maggiore.

Se ci è permesso perciò trarre da queste preliminari esperienze una sia pur teorica conclusione, dovremmo dire che il propianato di testosterone produce un certo effetto nell'accelerare la spermatogenesi quando è iniettato in concentrazioni assai deboli, quali può essere la quantità di 4 UI,

mentre man mano che la sua concentrazione va aumentando, il suo effetto sembra annullarsi sempre di più, finchè con quantità di 1225 UI non si ha il minimo acceleramento.

Se le cose vanno veramente così, si sarebbe avuta piena concordanza con quanto si è ottenuto nel 1937 in cui quantità di androsterone che al massimo raggiungevano 0.4 di UI e al minimo 0.05 di UI avevano portato in tutti i casi esaminati, ad un notevole acceleramento di spermatogenesi. In questo caso l'ormone maschile introdotto in così piccola quantità non avrebbe prodotto quell'effetto inibitorio che producono dosi maggiore di queste sostanze sull'ipofisi, la quale in tal modo diventa incapace di produrre la necessaria secrezione per mantenere in attività il testicolo. Effetti dannosi infatti, prodotti coll'introduzione di queste sostanze, sono noti sia sul ratto che sul cane. Moore e Price [1] trovano infatti nel 1937 che in giovani ratti maschi dosi giornaliere di androsterone sintetico da 25 a 100 γ non producono alcun effetto stimolante sulla spermatogenesi; dosi di 1 o 2 mg. somministrate prima della produzione degli spermatozoi deprimono la spermatogenesi, mentre dosi di 6 mg. al giorno non hanno alcun effetto percettibile sui testicoli di ratti adulti, in quanto secondo gli A. queste dosi probabilmente non sono ancora sufficienti ad inibire l'ipofisi di ratti divenuti adulti.

Korenchevsky [2] e collaboratori trovano nel 1933 che queste sostanze riducono notevolmente la grandezza dei testicoli di giovani ratti, mentre portano a diminuzione di peso del testicolo in ratti adulti.

Itho e Kon [3] nel 1935 dimostrarono i danni provocati coll'introduzione di queste sostanze sull'accrescimento e sullo sviluppo dei testicoli in giovani cani.

D'altra parte bisogna ricordare che Wells e Moore [4] nel 1936 trovarono che nel *Citellus tridecemlineatus* dosi giornaliere di 0.5-1.5 mg. di androsterone per un periodo di 20-31 giorni facevano apparire, in tempo prematuro rispetto ai controlli, anche quattro mesi prima, gli spermatozoi in testicoli di maschi giovani e anche adulti. Si aveva quindi in questo caso non un effetto inibitorio con la somministrazione di queste sostanze, ma un effetto di acceleramento. La ragione di questo fatto non è ben chiara agli autori, i quali in seguito ai loro risultati sono tratti a dire che evidentemente esiste un equilibrio ormonale differente in questo tipo di mammifero che si riproduce una volta all'anno dal tipo che si riproduce costantemente rappresentato dal ratto.

Ora niente ci fa escludere che questo possa verificarsi nella carpa, in quanto ben poco ancora sappiamo sul comportamento di questi animali rispetto agli ormoni loro somministrati.

Per l'esame poi dell'influenza che ha l'ormone follicolare sulla spermatogenesi delle carpe, un altro gruppo di animali venne a subire iniezioni di ormone follicolare (*Folliculin Menformon* della Degewop Organon): nelle

esperienze invece eseguite durante il 1937 venne adoperato il *Progynon B oleosum* forte di Schering a 50.000 UI. Le carpe nel 1937 ricevettero quantità di 50.000, di 15.000 e di 20.000 UI di questa sostanza durante i mesi di marzo, aprile, maggio e giugno. Nelle esperienze di quest'anno si adoperò il *Menformon* a 50.000, a 10.000 e a 1000 UI. Le iniezioni furono di 0.1 cc. per volta, si susseguirono una volta alla settimana, e furono fatte in numero di 5 per il *Menformon* a 10.000 e a 1000 UI, mentre solo tre iniezioni si eseguirono in quegli animali che ebbero a subire il *Menformon* a 50.000 UI. Si ebbe così un lotto di 25 animali che venne ad avere in tutto 500 UI: di questi soltanto 6 risultarono maschi, dei quali due arrivarono alla formazione di spermii e quattro no.

Un altro lotto di animali venne invece ad avere 5.000 UI; dei 5 maschi che ne risultarono, uno solo arrivò alla formazione di spermii, mentre gli altri 4 si limitarono a formare alcuni spermatidii.

Dei 20 animali poi che subirono 3 iniezioni del preparato a 50.000 UI, tre soli furono maschi, dei quali due rimasero coi testicoli allo stadio di spermatogonii, e uno solo arrivò alla formazione di spermii.

Quindi dei 14 animali iniettati con ormone follicolare, 4 arrivarono alla formazione di spermii e 10 no, e precisamente lo stesso effetto si sarebbe avuto sia con quantità di 500 che di 15.000 UI, mentre con dosi di 5000 UI la percentuale dei negativi (1 positivo e 4 negativi) sarebbe stata maggiore; non è quindi escluso che una concentrazione debole e una concentrazione forte abbiano avuto un qualche effetto nell'accelerare la spermatogenesi, cosa che soltanto in minima parte avrebbe avuto una concentrazione moderata.

Invece è noto di regola da tutte le ricerche che sono state fatte con ormone follicolare, che dosi sia moderate che forti di follicolina, producono effetti inibitori nel testicolo sia di ratti che di topi. Ci basti citare tra le numerose esperienze in proposito quelle di Golding e Ramirez [5], di Laqueur e de Jongh [6], di Tuchmann [7], di Schoeller e Gehrke [8], per non citarne altre.

D'altra parte Hohlweg [9] sostiene che iniettando, anche in una sola iniezione, dosi molto forti di ormone follicolare si producono nell'ipofisi modificazioni istologiche simili a quelle che avvengono nell'ipofisi delle gravide e si ha un improvviso versamento di ormone gonadotropo, che nelle femmine di ratti si rende manifesto per la comparsa di numerosissimi corpi lutei. Questo è stato confermato da Berblinger e da Zeep Curt [10] nel 1938 sul topo. Quest'ultimo A. ha trovato che oltre che nei ratti, anche nei topi quando si inietta una forte dose di ormone follicolare si ha una gran espulsione di sostanze stimolanti la gonade, quali, per es., può essere il fattore luteinizzante dell'ipofisi anteriore; ciò può avvenire secondo l'A. anche in animali maturi senza riguardo al loro ciclo sessuale.

Inoltre Del Castillo e Pinto [11] dimostrarono che una fortissima dose di estrone (50 U per 12 giorni) fece aumentare la spermatogenesi in

testicoli di ratti adulti, mentre dosi più deboli produssero effetti dannosi al testicolo.

Potremmo forse pensare che nel nostro caso potrebbe essere avvenuto qualcosa di simile, ma naturalmente trattandosi di un gruppo di animali così differenti, non possiamo avere un'idea precisa dell'andamento esatto dei fatti.

Ora se noi prendiamo ad esaminare i risultati del 1937 ottenuti con iniezioni di progynon, con quantità che andavano da 5000 a 20.000 UI in tutto, troviamo che in tutte le esperienze avemmo acceleramento di spermatogenesi. Bisogna notare però che nel 1937 le iniezioni erano fatte di 5000 UI per volta per poter raggiungere la dose finale; mentre quest'anno la stessa quantità totale veniva raggiunta facendo un numero maggiore di iniezioni, e cioè era somministrata in dosi minori per volta, il che forse potrebbe avere influito sul risultato finale dell'esperienza.

In ogni modo quello che risulta ben chiaro dalle esperienze eseguite nel 1937 e nel 1938 è che l'ormone follicolare non produce in questi animali un effetto dannoso, bensì forse un possibile effetto di acceleramento sulla spermatogenesi. Come e perchè ciò si verifichi a differenza della maggior parte degli animali, non è affatto spiegato.

Dobbiamo infine far notare che negli animali sperimentati quest'anno sia con ormone follicolare che con ormone testicolare, gli spermatozoi non si trovarono mai in così grandi ammassi come si sono avuti nel 1937. Su questo vari fatti possono avere influito e cioè: mentre nel 1937 gli animali vennero sperimentati per la maggior parte in un periodo che andava da aprile, a maggio e giugno, nel 1938 il maggior numero di esperienze fu condotto nei mesi di marzo e aprile, in un periodo quindi in cui gli animali erano un po' più giovani e quel che più importa in un periodo in cui la temperatura dell'acqua in cui si trovavano, era più fredda, e per un periodo più lungo, essendosi quest'anno il freddo prolungato per un tempo più lungo. Ora tutto questo potrebbe avere influito sull'andamento delle esperienze.

In secondo luogo poi, l'ormone maschile introdotto, non fu l'androstosterone come nel 1937, bensì il testosterone sintetico il quale se è considerato essere cinque volte più influente sulle vescicole seminali del ratto e sulla cresta del cappone, non è affatto detto abbia lo stesso effetto sul testicolo della carpa.

Tali sono i primi risultati ottenuti da queste preliminari esperienze, che devono essere naturalmente confermati dall'esame di un maggior numero di esemplari per poter dare delle risposte definitive ed esaurienti al problema in esame.

BIBLIOGRAFIA

- [1] C. R. MOORE e D. PRICE, *Endocrinol.*, 21, 1937.
[2] V. KORENCHESKY, M. DENNISON e A. KOHN-SPEYER, «*Biochem. J.*», 27, 1933, p. 557.
[3] M. ITHO e T. KON, «*Comp.-Rend. Soc. de Biol.*», 120, 1935, p. 678.
[4] L. J. WELLS e C. R. MOORE, «*Anat. Rec.*», 66, 1936, p. 181.
[5] G. T. GOLDING e F. T. RAMIREZ, *Endocrinol.*, 12, 1928, p. 801.
[6] E. LAQUEUR, P. C. HART e S. E. DE JONGH, «*Proc. Roy. Acad. Amsterdam*», 29, 1926, p. 1.
[7] H. TUCHMANN, «*Compt.-Rend. Soc. de Biol.*», 122, 1936.
[8] W. SCHOELLER e M. GEHRKE, «*Biochem. Zeitschr.*», 264, 1933.
[9] HOHLWEG, «*Klin. Wschr.*», 1934.
[10] ZEEP KURT, «*Königsberg i Pr. Diss.*», 22, 1936.
[11] E. B. DEL CASTILLO e A. PINO, «*Rev. Soc. Argent. de Biol.*», 13, 1937, p. 426.
[12] G. CASTELNUOVO, «*Rivista di Biologia*», vol. 23, 1937.

54691

~~325834~~



