

RENDICONTI DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI

Classe di Scienze fisiche, matematiche e naturali.

Estratto dal vol. XXVII, serie 6<sup>a</sup>, 1<sup>o</sup> sem., fasc. 10. - Roma, maggio 1938-xvi

Nuove osservazioni sull'ormone pancrea-  
tivo iperglicemizzante di G. Martino

NOTA

DI

G. ARAGONA



*Bia*  
*B*  
*27*  

---

*68*

ROMA

DOTT. GIOVANNI BARDI

TIPOGRAFO DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI

1938-xvi



---

**Fisiologia** (Chimica biologica). -- *Nuove osservazioni sull'ormone pancreatico iperglicemizzante di G. Martino*<sup>(1)</sup>. Nota di G. ARAGONA, presentata<sup>(2)</sup> dal Corrisp. C. CIACCIO.

Dopo la scoperta dell'insulina gli Autori che si occuparono di studiarla furono colpiti dall'osservazione di una iperglicemia che si manifestava dopo pochi minuti dall'iniezione di questa sostanza. Le prime osservazioni in proposito si trovano nei lavori di Collip<sup>(3)</sup> e Delezenne<sup>(4)</sup>, che si limitarono a rilevare il fenomeno, senza cercare di approfondirne la conoscenza. Il primo accenno alla presenza di una sostanza ad azione iperglicemica negli estratti pancreatici è nel lavoro di Fisher<sup>(5)</sup> che, nel preparare l'insulina, ottenne per aggiunta di un volume di alcool assoluto al prodotto impuro disciolto in acqua, un precipitato bruno, tossico per gli animali, ad azione iperglicemizzante. J. Murlin, H. Clough, C. Gibbs e A. Stokes<sup>(6)</sup> ammisero la presenza nell'estratto pancreatico di una frazione destinata ad elevare il tasso glicemico, considerandola non come impurità dovuta a difetto di tecnica, ma come sostanza normalmente presente e dal pancreas stesso elaborata: Gibbs, Root e Murlin<sup>(7)</sup> riuscirono successivamente ad isolarla, dando ad essa il nome di « glucagone ». Anche Foerster ed Heuner<sup>(8)</sup> poterono ottenere durante l'estrazione dell'insulina, una sostanza capace di elevare il tasso glicemico nel coniglio. Eseguendo estrazioni con alcool ed etere, di tessuto pancreatico, Belfanti<sup>(9)</sup> ottenne una sostanza, cui diede il nome di sostanza Y,

(1) Dall'Istituto di Fisiologia Umana della R. Università di Messina.

(2) Nella seduta del 15 maggio 1938.

(3) J. B. COLLIP, « Amer. Journ. of Physiol. », LXIII, 391, 1923.

(4) C. DELEZENNE, « Compt. Rend. Acad. Scienc. », CLXXV, 18, 1922.

(5) N. F. FISHER, « Amer. Journ. of Physiol. », LVII, 57, 1923.

(6) J. MURLIN, H. CLOUGH, C. GIBBS e A. STOKES, « Journ. Biol. Chem. », LVI, 253, 1923.

(7) C. GIBBS, E. ROOT, J. MURLIN, « Quart. Journ. of exper. Physiol. », 128, 1923.

(8) A. FOERSTER e E. HEUNER, « Klin. Wochenscr. », III, 1099, 1924.

(9) S. BELFANTI, « Rend. R. Ist. Lombardo Sc. e Lett. », LVII, 146, 1924.

che, secondo l'Autore, esisterebbe « a lato dell'ormone ipoglicemizzante ». Nel 1927 Martino <sup>(1)</sup>, tentando di estrarre l'insulina dal succo pancreatico di cane normale, ottenne da questo « una sostanza che, iniettata sotto cute, si è dimostrata capace di determinare nel coniglio un aumento sempre ben apprezzabile del tasso glicemico ». Eseguendo l'estrazione dal pancreas l'Autore ottenne sostanze ad effetto opposto a seconda delle condizioni di digiuno o di normale alimentazione degli animali: dal pancreas degli animali digiunanti ottenne la sostanza iperglicemizzante; da quello degli animali normali un estratto ad azione nettamente ed esclusivamente ipoglicemica. L'aumento del tasso glicemico, provocato dalla sostanza iperglicemizzante, era a volte preceduto, a volte seguito da una fugace ipoglicemia. Chiusa in tubi saldati alla fiamma, la sostanza si è dimostrata attiva ancora 51 giorni dopo l'estrazione. Circa la natura della sostanza da lui estratta, G. Martino <sup>(2)</sup> scrive: « Alcuni fatti ci sembra inducano a far considerare l'azione iperglicemica come dovuta ad una sostanza a sè, talora associata ma comunque distinta da quella ad azione opposta »; e per la sua origine « nulla induce ad escludere che possa essere lo stesso pancreas l'organo produttore anche della sostanza iperglicemizzante; siccome poi tale sostanza, resistente agli enzimi stessi pancreatici, passa nel succo pancreatico, mentre si accumula nell'organo durante la sospensione della sua secrezione esterna, si può pensare che sia la parte acinosa dell'organo ad elaborarla . . . ».

La presenza di sostanze iperglicemizzanti fu successivamente negata da Norgaard e Hess Thaysen <sup>(3)</sup>, Ionesco, Cosmulesco e Tomesco <sup>(4)</sup>, Rathery, Kourilsky, Laurent e Gibert <sup>(5)</sup> che, pur ammettendo la fase iperglicemica, dopo iniezione d'insulina, come quasi costante (e più marcata dopo iniezione endovenosa), la considerarono come determinata da mobilitazione del glicogeno epatico ad opera della sostanza ipoglicemizzante. Bürger e Kramer <sup>(6)</sup>, nel 1929, affermarono che l'iperglicemia iniziale, per iniezione di insulina non cristallizzata, è dovuta all'azione di una sostanza ad effetto opposto, associata all'insulina e che, come questa, verrebbe elaborata dal pancreas. L'ipotesi degli Autori trovò conferma nei risultati di Geiling e De Lawder <sup>(7)</sup>,

(1) G. MARTINO, « Arch. Sc. Biol. », X, 4, 1927.

(2) G. MARTINO, loc. cit.

(3) A. NORGAARD e TH. E. HESS THAYSEN, « Acta Medica Scandinava », LXXII, 492, 1929.

(4) D. IONESCO, I. COSMULESCO, M. TOMESCO, « Compt. R. Soc. Biol. », CII, 167, 1929.

(5) F. RATHERY, R. KOURILSKY, Y. LAURENT e S. GIBERT, « Compt. R. Soc. Biol. », CIII, 563-565-881-1235, 1930.

(6) M. BÜRGER e H. KRAMER, « Compt. R. d. XIII Congrès Intern. de Physiol. », 41, 1929.

(7) E. GEILING e A. DE LAWDER, « Journ. of Pharmac. a. exper. Therap. », XXXIX, 369, 1930.

Neuwirth, Co Tui e Wallace <sup>(1)</sup>, Bellido e Puche Alvarez <sup>(2)</sup> ed Hennequin <sup>(3)</sup> il quale ultimo affermò che la sostanza iperglicemizante può essere presente, come tale, nel tessuto pancreatico, a fianco dell'insulina da cui è completamente indipendente. Bürger e Brandt <sup>(4)</sup>, nel 1935, imputarono al *glucagone* la comparsa dell'iperglicemia, dando come caratteristica di questa sostanza l'attività in dosi di 5-10  $\gamma$  pro Kg. di peso corporeo, quando venga introdotta per via endovenosa, ed affermarono che nessuna delle altre sostanze ad azione iperglicemica studiate dai precedenti Autori avesse così elevata attività. Essi scrissero che: « während unsere Präparate in der Größenordnung von Gamma wirken, haben andere Autoren grammweise ihre Produkte in die Blutbahn injiziert ». È evidente che agli Autori tedeschi erano sfuggite le precedenti osservazioni del Martino (che infatti non si trovano citate nel testo dei loro lavori), il quale aveva osservato netta elevazione del tasso glicemico, nel coniglio, già per l'*iniezione sottocutanea* di 0,05 mg. della sostanza pro Kg. di peso corporeo. Avendo a disposizione dei campioni delle sostanze estratte nelle citate esperienze di Martino, abbiamo voluto saggiarne l'attività dopo 10 anni dall'estrazione, esaminando anche il comportamento di dosi inferiori a quelle adoperate dall'Autorè. Abbiamo sperimentato su conigli adulti, in buone condizioni generali, iniettando le sostanze ottenute nelle esperienze di cui ai protocolli N. VIII e XII di questo Autore <sup>(5)</sup>; per la somministrazione è stata scelta a volte la via sottocutanea, a volte quella endovenosa. È da notare che Bürger e collaboratori, i quali ottennero l'aumento del tasso glicemico già per iniezione di 5-10  $\gamma$  pro Kg. di peso corporeo nel coniglio, somministrarono sempre per via endovenosa la soluzione del loro « glucagone »; mentre G. Martino, che aveva trovato, come dose ancora efficace, quella corrispondente a mg. 0,05 pro Kg. di peso del corpo, aveva sempre iniettato per via sottocutanea le soluzioni dei suoi estratti. Le dosi adoperate si sono aggirate tra i mg. 13,88 e i mg. 0,006 pro Kg. di peso del corpo: quelle da mg. 1,133 a mg. 0,0066 sono state iniettate per via endovenosa, quelle superiori per via ipodermica. L'animale era sempre digiuno da 12 ore ed il tasso glicemico è stato determinato col metodo di Hagedorn-Jensen secondo la modificazione di Barelli <sup>(6)</sup>, procedendo, però, alla determinazione per pesata, colla bilancia analitica, della quantità di sangue prelevata per l'esame.

Abbiamo eseguito undici esperienze i cui protocolli sono, per brevità, riassunti nella seguente tabella:

(1) I. NEUWIRTH, I. Y. CO TUI e G. WALLACE, « Proc. Soc. exper. Biol. Med. », XXVII, 194, 1929.

(2) J. M. BELLIDO e J. PUCHE ALVAREZ, « Trabaios Inst. d. Fisiol. de Barcelona », II, 177, 1927.

(3) L. HENNEQUIN, « Rev. Franç. d'Endocrin. », II, 83, 1933.

(4) M. BÜRGER e W. BRANDT, « Z. exp. Mediz. », XCVI, 375, 1935.

(5) G. MARTINO, « Arch. di Sc. Biol. », X, 420, 1927; X, 426, 1927.

(6) L. BARELLI, « Diagn. e Tecn. di Labor. », II, 219, 1931.

TABELLA.

N° dell'esperimento	Peso del coniglio gr.	Peso sost. iniettata mg.	Sost. pro Kg. di peso corporeo. mg.	Via di somministrazione	Glicemia iniziale gr.	Massimo valore glicemico gr.	Massimo aumento percentuale	Tempo del mass. aumento dopo la iniezione	Osservazioni
I	1800	10	5,55	sottocutanea	0,81	0,68	17	90'	Sost. estr. esp. VIII
II	1800	25	13,88	»	1	1,11	11	30'	»
III	1750	5	2,85	»	1,14	1,14	—	—	»
IV	1800	10	5,55	»	1,1	1,30	29	60'	»
V	1700	5	2,94	»	1,11	1,34	12	90'	»
VI	1500	17	11,33	»	1,05	1,77	68	45'	Sost. estr. esp. XII
VII	1500	1,7	1,133	endovenosa	1,15	2	70	45'	»
VIII	2000	0,60	0,30	»	1,30	1,54	18	45'	»
IX	1500	0,010	0,0066	»	1,33	1,66	24	15'	»
X	1500	0,015	0,010	»	0,9	1,07	9	15'	»
XI	1500	0,015	0,010	»	1,05	1,65	57	3'	»

Le sostanze da noi studiate hanno presentato, dopo dieci anni, attività analoga a quella manifestata durante le ricerche del Martino. Mentre l'aumento del tasso glicemico fu costante per entrambi i campioni esaminati, le percentuali dell'aumento stesso variarono, per la sostanza ottenuta dal Martino nell'esperienza VIII, tra l'11% e il 29%, e, per quella ottenuta nell'esperienza XII, raggiunsero, per introduzione sottocutanea, il 70%: valori questi quasi sovrapponibili a quelli ottenuti con la somministrazione della sostanza all'epoca dell'estrazione. Non abbiamo mai riscontrato diminuzioni del tasso glicemico, pur seguendo il comportamento della glicemia per un tempo abbastanza lungo (3 ore). Per le prove eseguite con la somministrazione della sostanza per via endovenosa (sostanza estratta da G. Martino nella XII esperienza, di cui avevamo saggiato l'attività con l'esperienza di cui al N. VI della nostra tabella) le determinazioni sono state eseguite di 10 in 10 minuti e protratte per due ore.

In tutte le prove abbiamo notato un aumento del tasso glicemico che raggiunse il massimo del 70% nell'esperienza VII.

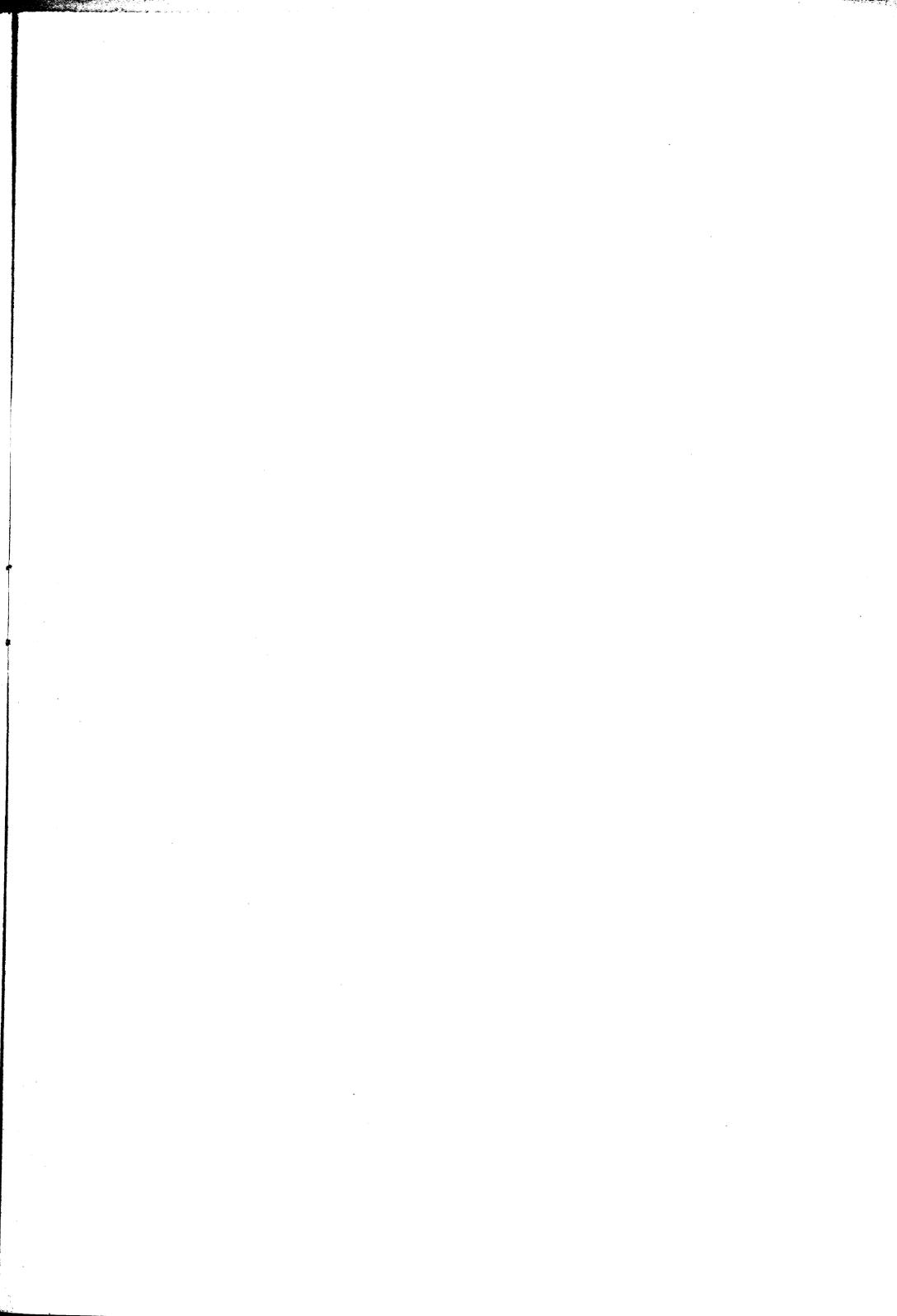
Come risulta dalla tabella, non è stato possibile mettere in evidenza un rapporto tra entità dell'iperglicemia e dose iniettata; la stessa quantità di sostanza ha dato, nelle esperienze X e XI, un aumento del tasso glicemico rispettivamente del 9% e del 57%. Anche il tempo intercorso tra l'iniezione ed il massimo dell'azione non è stato costante: in tre esperienze il massimo della curva è stato raggiunto dopo 45', in due dopo 15', in una dopo 30'. La massima rapidità d'azione si è presentata nelle esperienze IX e X, nelle quali avevamo iniettato, rispettivamente, mg. 0,0066 e mg. 0,010 di sostanza per Kg. di peso del corpo.

Concludendo, dalle nostre ricerche risulta che la sostanza iperglicemizzante estratta dal Martino nel 1927 e conservata in tubi di vetro saldati alla fiamma, presenta ancora oggi inalterata la sua attività; che essa determina aumento del tasso di zucchero del sangue sia per iniezione ipodermica che endovenosa; che è attiva a dosi pari a 0,0066 mg. pro Kg. di peso corporeo. Ci pare quindi che possa essere identificabile col cosiddetto « glucagone » di Murlin e Bürger.

54722







~~325686~~

