

In corso di stampa

**Dal "milieu interieur" di Bernard al concetto di omeostasi di Cannon"
sezione Biologia, vol. VIII 'La Seconda Rivoluzione Scientifica',
Storia della scienza
Istituto dell'Enciclopedia Italiana, Treccani, Roma.**

Stefano Canali

A partire dalla metà dell'Ottocento, l'applicazione dell'approccio fisico-chimico e sperimentale allo studio delle funzioni degli organismi viventi iniziava a delineare la centralità del controllo e della regolazione nei processi fisiologici. Tra il 1857 e il 1865, Claude Bernard (1838-1878) elaborava il concetto di ambiente interno, l'idea fondamentale per l'inquadramento teorico delle evidenze e la definizione delle future ricerche sperimentali sui fenomeni dell'autoregolazione.

L'ambiente interno per Bernard era il complesso fluido (il plasma negli animali superiori) che bagna le cellule e agisce come vettore per lo scambio di nutrienti e di prodotti di rifiuto tra queste e l'ambiente esterno ed assicura, integrando le diverse parti del corpo, le condizioni fisico-chimiche più idonee alle funzioni cellulari.

«Tutti i meccanismi vitali, comunque variati e diversi essi siano, hanno soltanto uno scopo, quello di preservare costanti le condizioni della vita nell'ambiente interno», scriveva Bernard nel 1878,¹ indicando gli ambiti di un programma di ricerca sperimentale così vasto e articolato da coincidere con la fisiologia generale nel suo complesso.

In maniera apparentemente paradossale e nonostante i reiterati richiami di taluni studiosi (tra cui alcuni di quelli citati nel presente lavoro) a nuovi fantomatici vitalismi o visioni organicistiche totalizzanti, la concezione integrazionistica avanzata da Bernard è andata successivamente affermandosi grazie all'estesa applicazione di un approccio analitico. Essa è stata precisata nella messa a punto di modelli sperimentali tesi ad isolare variabili e processi specifici, per l'intervento di strumenti in grado di risolvere la realtà dei fenomeni fisiologici a livelli sempre più microscopici. Il volto complesso e la trama coordinata dell'autoregolazione fisiologica, in tal senso, sono stati tracciati dalla composizione delle evidenze e delle informazioni relative alle relazioni tra il comportamento o il meccanismo funzionale di una parte del corpo e il comportamento di un'altra parte del corpo.

Regolazioni cardiovascolari

La ricerca sperimentale sui sistemi di controllo dell'apparato cardiovascolare era stata inaugurata nel 1845 a Lipsia, quando i fratelli Weber, Ernst Heinrich (1795–1878) e Eduard Friedrich Wilhelm (1806–1871), avevano osservato che la frequenza cardiaca poteva essere rallentata stimolando le branche del vago afferenti al cuore ed aumentata agendo sulle porzioni cardiache del simpatico. Successivamente, le indagini condotte presso l'istituto di fisiologia di Lipsia diretto da Carl Ludwig (1816-1895) ponevano le basi per il programma di ricerca per la localizzazione nei vasi dei centri per la regolazione cardiovascolare e la comprensione dei loro meccanismi di funzionamento. Nel 1866, Ludwig e Cyon avevano dimostrato per primi che la stimolazione delle fibre afferenti al bulbo dall'arco aortico, inducevano bradicardia e ipotensione, attraverso il nervo vago.

¹ C. Bernard, *Leçons sur les phénomènes de la vie communs aux animaux et aux végétaux*, Baillière, Paris, 1878, I vol., p. 121.

Nessuna significativa acquisizione veniva fatta in questo filone di indagine sino al 1898, quando Giuseppe Pagano (1872-1959), allora assistente all'istituto di fisiologia dell'Università di Palermo, individuava nel seno carotideo una zona sensibile alle variazioni di pressione localizzata nella biforcazione della carotide comune nei suoi rami interno ed esterno.

Pagano aveva ripreso gli esperimenti condotti nel 1877 da Charles Émile François Franck (1849-1921) al laboratorio del Collège de France, secondo i quali un aumento o una diminuzione di pressione nel circolo carotideo-cefalico provocano rispettivamente un aumento o una diminuzione della frequenza cardiaca. Pagano attribuiva questi fenomeni a un riflesso sul vago indotto da una specifica sensibilità della carotide, era d'altronde noto da tempo che una trazione o una stimolazione meccanica sulla carotide determinava inibizione cardiaca e ipotensione. Negli stessi anni Luigi Siciliano dimostrava che le variazioni della frequenza cardiaca e della pressione arteriosa originavano dalla carotide e non, come si credeva in quel tempo, direttamente dal cervello. da Purtroppo incompleti e scarsamente conosciuti, gli studi di Pagano e Siciliano passavano praticamente inosservati nella comunità scientifica dell'epoca.

Il significato delle evidenze ottenute da Pagano veniva precisato nei primi anni Venti dalle ricerche di Heinrich Ewald Hering (1866-1948). Egli dimostrava che la zona vasosensibile è posta nel seno carotideo e che stimolando meccanicamente o elettricamente quella zona si ottiene bradicardia e caduta della pressione arteriosa².

I risultati di Hering venivano confermati negli stessi anni dalle importanti ricerche condotte a Gand dal fisiologo belga, Corneille Heymans (1892-1968), attraverso l'elaborazione del protocollo sperimentale della perfusione crociata già introdotto dal connazionale Leon Frédéricq (1851-1935). Heymans isolava il seno carotideo del cane dalla circolazione, lasciandone però intatta l'innervazione. Quindi perfondeva il preparato con sangue prelevato o direttamente trasfuso da un altro cane, osservando che se la pressione all'interno del seno carotideo isolato cresceva si produceva una caduta della pressione sanguigna ed un abbassamento del ritmo cardiaco; mentre al contrario una diminuzione della pressione nel preparato determinava un innalzamento di quella generale e un aumento della frequenza cardiaca³.

Ma con quali meccanismi fisiologici si produceva tale risposta? Il primo ricercatore a rispondere a questo interrogativo fu l'istologo spagnolo Fernando De Castro (1896-1967), allievo e collega di Ramon y Cajal. Nel 1926, egli dimostrava la ricca innervazione di fibre recettrici delle pareti del seno carotideo, fornendo precise evidenze sull'anatomia microscopica del glomo carotideo, un piccolo organo neurovascolare posto in corrispondenza del seno carotideo, la zona indicata da Hering e Pagano come responsabile dei riflessi cardioinibitori⁴. De Castro ipotizzava che il glomo carotideo fosse uno speciale organo di senso in grado di rispondere a determinate modificazioni chimiche del sangue⁵.

² Hering E. *Der Karotisdruckversuch*. Münchener medizinische Wochenschrift, 1923, 70: 1287-1290; *Die Aenderung des Herzschlagzahl durch Aenderung des arteriellen Blutdruckes erfolgt aus reflektorischem Wege; gleichzeitig eine Mitteilung über die Funktion des Sinus caroticus, beziehungsweise der Sinusnerven*. Pflügers Archiv für die gesamte Physiologie des Menschen und der Tiere, 1924, 206: 721-723.

³ Heymans C e Ladon A, *Recherches physiologiques et pharmacologiques sur la tete isolée et le centre vague du chien*. Arch. Internat. De Pharmacodyn. Et de therap., 1925, 30:425-453.

⁴ De Castro, F. *Sur la structure et l'innervation de la glande intercarotidienne (glomus caroticum) de l'homme et des mammifères, et sur un nouveau système d'innervation autonome du nerf glossopharyngien*. Trav. Lab Recherches Biol Univ Madrid, 1926, 24 :365-432

⁵ De Castro, F. *Sur la structure et l'innervation du sinus carotidien de l'homme et des mammifères. Nouveaux faits sur l'innervation et la fonction du glomus caroticum*. Trav. Lab Recherches Biol Univ Madrid, 1928, 25 :331-380

L'idea di un meccanismo neuromorale nella regolazione della pressione e del ritmo cardiaco, che tuttavia escludeva funzioni endocrine per il glomo carotideo, veniva invece avanzata da Heymans e da Walter Bradford Cannon (1871-1945). Nel 1929, i due avevano dimostrato indipendentemente che le variazioni di pressione a livello dei recettori del seno carotideo inducevano il rilascio di adrenalina⁶, precisando così peraltro le prime osservazioni sull'azione vasocostrittrice dell'adrenalina fatte nel 1894 da Edward Albert Sharpey-Schafer (1850-1935) e George Oliver (1841-1915). Heymans studiava inoltre le relazioni tra le variabili fisiologiche dei processi respiratori e le dinamiche cardiovascolari, iniziando a far luce sui meccanismi di compenso reciproco e le interazioni tra questi due sistemi fisiologici.

Regolazioni cardiovascolari e funzioni renali

Agli inizi del '900 Ernest Starling (1866-1927) dimostrava sperimentalmente sul cane il ruolo dell'assorbimento renale nella regolazione reciproca tra volume e pressione del sangue. Allo stesso tempo, Starling accertava l'esistenza di livelli critici di pressione arteriosa per l'avvio e il mantenimento della filtrazione renale. Manipolando la pressione del sangue in entrata ai reni con una pinza sull'arteria renale, Starling appurava che la filtrazione si arrestava quando la pressione sanguigna nel rene scendeva ai valori della pressione osmotica esercitata dalle proteine plasmatiche. Al contrario, rilasciando la pinza e quindi aumentando il flusso sanguigno verso il rene, Starling osservava la ripresa della filtrazione e il suo procedere a ritmi tanto più alti quanto maggiore era l'eccesso di pressione.

Nella seconda metà degli anni '40, Ewald Erdman Selkurt (1914-1993) metteva in rilievo gli effetti della pressione arteriosa sull'assorbimento renale del sodio. Questa evidenza costituiva uno dei riferimenti sperimentali fondamentali del complesso modello di spiegazione delle regolazioni cardiovascolari proposto da Arthur Clifton Guyton (1919-2003) all'inizio degli anni '60, che individuava nelle funzioni renali i principali meccanismi di compensazione e aggiustamento della pressione arteriosa.

La regolazione della respirazione

Strettamente intrecciata al filone delle ricerche sulle regolazioni del sistema cardiovascolare era la ricerca sui processi regolativi nella respirazione. Sin dall'antichità era infatti noto che le variazioni nel ritmo e nella profondità della respirazione si accompagnavano a evidenti mutamenti nella frequenza cardiaca.

L'idea di un'autoregolazione (*Selbsteuerung*) della respirazione era stata avanzata per la prima volta nel 1868 da Karl Ewald Konstantin Hering (1834-1918) e Joseph Breuer (1842-1925), i quali avevano dimostrato che i riflessi di espirazione e inspirazione innescati rispettivamente dalla distensione e dalla deflazione dei polmoni sono mediati dal nervo vago. Nello stesso anno i lavori di Edward Pflüger (1829-1910), invece, avevano messo in evidenza l'esistenza di una regolazione chimica della respirazione dipendente dalle variazioni di concentrazione del biossido di carbonio e di ossigeno nel sangue. Si dovevano ora accertare le relazioni quantitative tra le concentrazioni dei due gas nel sangue e la respirazione. Fu Friedrich Meischer (1844-1895) nel 1885 a raccogliere i primi dati quantitativi grazie ai quali si iniziava a comprendere che il biossido di carbonio aveva il ruolo primario nella regolazione chimica della respirazione.

Le evidenze e l'interpretazione fisiologica data da Meischer venivano confermate dalle ricerche di Leon Frédéricq, che, allo stesso tempo, rappresentavano il primo grande passo verso l'identificazione della sede della chemosensibilità.

⁶ Heymans C., Le sinus carotidien et les autres zones vasosensibles réflexogènes, Presse Universitaire de France, Paris, 1929 ; Cannon, WB, Organization for physiological homeostasis. *Physiol. Rev.*, 1929, 9 :399-431

Frédéricq praticava un'anastomosi dei vasi del collo di due cani facendo sì che la testa di ognuno fosse irrorata dalla circolazione dell'altro. In queste condizioni, l'occlusione momentanea della trachea in uno dei due cani faceva aumentare i movimenti respiratori nell'altro ed induceva un'apnea nel primo non appena ne veniva liberata la trachea. Era la dimostrazione dell'esistenza di recettori sensibili a stimoli chimici a livello centrale o quantomeno più cranialmente rispetto al punto di anastomosi dei vasi dei due cani⁷. Con lo stesso protocollo sperimentale, Frédéricq dimostrava nel 1901 la preponderanza del ruolo del biossido di carbonio nella regolazione della respirazione rispetto a quello svolto dall'ossigeno⁸.

Negli anni successivi fu John Scott Haldane (1860-1936) la figura dominante nel campo delle ricerche sulla regolazione della respirazione. Egli definì il concetto di aria alveolare, mise a punto tecniche per la sua raccolta ed analisi così semplici ed affidabili che hanno reso possibile la sperimentazione sugli uomini e soprattutto cominciò a considerare la regolazione della respirazione nei termini più generali del controllo dell'ambiente interno.

Nel 1905, Haldane e John Gillies Priestley (1880-1941)⁹ analizzavano sistematicamente centinaia di campioni di aria alveolare prelevata da soggetti nelle più diverse condizioni fisiologiche. I risultati così ottenuti dimostravano: (1) a differenza di quella dell'ossigeno, la pressione del biossido di carbonio in questi campioni rimane sorprendentemente costante al variare della pressione barometrica; (2) «i centri respiratori sono squisitamente sensibili ad ogni incremento della pressione alveolare di CO₂» (piccolissime variazioni delle concentrazioni di biossido di carbonio nell'aria alveolare, infatti, provocano vaste modificazioni della respirazione, mentre sono necessari notevoli abbassamenti nella percentuale dei valori di ossigeno per stimolare la ventilazione polmonare); (3) l'apnea che segue l'iperventilazione è causata dall'ipocapnia (bassa concentrazione ematica di anidride carbonica) e può essere prevenuta con la somministrazione di aria al 5.5% di biossido di carbonio; (4) durante il lavoro muscolare sale la pressione alveolare di CO₂ e ciò induce un forte incremento della ventilazione polmonare. In base a tali dati sperimentali Haldane e Priestley concludevano che «la regolazione della ventilazione alveolare nella respirazione dipende, in condizioni normali, esclusivamente dalla pressione del CO₂ nei centri respiratori».

Il significato di questo lavoro va oltre la specificazione delle relazioni quantitative in gioco nella chimica della respirazione. L'ultima delle evidenze sopra descritte, in particolare, permetteva per la prima volta di correlare quantitativamente la regolazione della respirazione alla dinamica del soddisfacimento delle richieste metaboliche dei tessuti.

Nel 1908, Haldane era costretto a modificare la teoria quantitativa formulata con Priestley. Il fattore chimico primario per la regolazione della respirazione non è il biossido di carbonio, ma «ciò che potrebbe essere chiamato l'acidità totale del sangue, inclusa quella dovuta al CO₂ libero». Questa nuova ipotesi veniva ulteriormente corroborata nel 1909, quando, insieme con Douglas, Haldane trovava che la tensione alveolare del diossido di carbonio diminuisce durante l'esercizio.¹⁰ In questo caso, la stimolazione della respirazione sarebbe allora da attribuire all'aumento di reattività del sangue che consegue alla produzione di acido lattico da parte dei muscoli.

⁷ L. Frédéricq, *Methode des gek reutzen Kreislaufs*. Bull. Acad. Belg., 1887, 13,4:417

⁸ L. Frédéricq, «Sur la cause del'apnée», *Archiv. Biol.*, 1900, 17, pp. 561-76.

⁹ J.S. Haldane, J.G. Priestley, «The regulation of the lung-ventilation», *J. Physiol.*, 1905, 32, pp. 255-266.

¹⁰ C.G. Douglas, J.S. Haldane, «The regulation of normal breathing», *J. Physiol.*, 1909, 38, pp. 420-40.

La regolazione del pH nel sangue

I notevoli sviluppi delle conoscenze sulla chimica dell'equilibrio acido-base di quegli anni, frattanto, gettavano luce sulle relazioni tra biossido di carbonio e acidità del sangue e supportavano l'idea di Haldane sul ruolo dell'acidità nella regolazione della ventilazione polmonare. Già dal 1900, Auguste Fernbach (1860-1932) aveva introdotto il termine "tampone" per indicare l'azione di mantenimento del grado di acidità operata dai fosfati all'interno di una soluzione di estratto di malto posta a contatto con vari reagenti. Fernbach aveva intuito, peraltro, l'importanza dei tamponi per la fisiologia in generale, quando affermava che in tal modo l'azione dei «fluidi organici naturali [...] beneficia di una protezione contro variazioni repentine di acidità o alcalinità». Agli inizi del '900, era stato Lawrence J. Henderson (1878-1942), docente di chimica biologica dell'università di Harvard, a determinare sperimentalmente, che «l'influenza esercitata da acidità e alcalinità su molti processi chimici supera quella di tutte le altre condizioni, compresa la temperatura e la concentrazione dei reagenti». Nei sistemi biologici questa influenza si manifesta spiccatamente sull'attività enzimatica. Di conseguenza, il grado di acidità è uno dei parametri chimici dell'ambiente interno più rigorosamente controllati dai sistemi di stabilizzazione organica.

Henderson aveva cominciato a lavorare all'identificazione dei sistemi tampone inorganici attivi nei tessuti fin dal 1904. La determinazione quantitativa delle caratteristiche fisiche e chimiche di tali sistemi, ben presto, portò Henderson a scoprire che i vari sistemi tampone del corpo erano molto più efficienti e sicuri delle semplici soluzioni di acido debole e sale relativo e che la loro capacità di regolare il pH si amplificava fortemente quando potevano agire in combinazione con tutti gli altri. Le ricerche di Henderson, inoltre, facevano emergere un fatto ancora più sorprendente: i particolari sistemi tampone presenti nei tessuti sembrano essere esattamente i meccanismi per la regolazione dell'equilibrio acido-base più adatti ed integrati al complesso di tutte le altre funzioni organiche. La coppia coniugata bicarbonato-acido carbonico, il sistema tampone predominante nei Mammiferi, ad esempio, relativamente inefficace *in vitro*, diventa invece molto potente nel contesto dell'organizzazione fisiologica. Un aumento della concentrazione idrogenionica del sangue, infatti, stimola la ventilazione polmonare ed incrementa l'eliminazione di CO₂, questa compensazione controbilancia attivamente la diminuzione di bicarbonato nel plasma e ristabilisce il rapporto di tamponamento del sistema bicarbonato-acido carbonico. Tale meccanismo, tuttavia, come le ricerche sulla regolazione della respirazione del tempo andavano evidenziando, è correlato al controllo del rifornimento di ossigeno. Il biossido di carbonio, infatti, rappresenta il prodotto finale dei processi ossidativi cellulari, le sue variazioni di pressione nei tessuti, pertanto, esprimono variazioni di consumo dell'ossigeno. Questa risposta dei centri respiratori, in tal senso, è uno degli esempi più eloquenti dell'integrazione e della programmazione fisiologica, in quanto assicura, al contempo, un corretto approvvigionamento di ossigeno ed il mantenimento del grado di acidità dei tessuti più adatto allo svolgimento delle funzioni cellulari. La regolazione dell'equilibrio acido-base è ulteriormente complicata ed integrata, come Henderson comprese nel 1911, dai processi di escrezione renale degli acidi. Queste evidenze furono probabilmente determinanti nel dirigere la sua attenzione verso le questioni dell'autoregolazione e dell'organizzazione biologica. In questa direzione, Henderson finiva per maturare un approccio olistico, per taluni versi meramente speculativo, alla comprensione dei diversi livelli di manifestazione del vivente, dai processi biochimici ai fenomeni sociali, una dottrina totalizzante compendiata nel saggio pubblicato nel 1913, *The fitness of the environment*.

La regolazione della respirazione dopo Henderson

A dispetto delle rarefatte argomentazioni filosofiche, erano stati i dati sperimentali, il lavoro analitico sulla regolazione del pH, a mettere in evidenza che un altro meccanismo di controllo di un parametro dell'ambiente interno è implicato nella regolazione della respirazione, contribuendo così disegnare l'immagine dei processi fisiologici come un insieme comunque integrato ed autoregolato. In un lavoro del 1909, tra l'altro, Haldane paragonava, per la prima volta, i centri del respiro al regolatore centrifugo (il dispositivo di controllo a retroazione installato nel 1790 da James Watt sul primo motore rotativo a vapore), introducendo così un'analogia tra apparati cibernetici e strutture funzionali del vivente che si rivelerà ben presto uno dei modelli concettuali più fecondi della ricerca biomedica del '900.

L'idea della respirazione processo integrato nel complesso degli aggiustamenti fisiologici deputati al mantenimento della costanza dell'ambiente interno faceva inoltre cadere le ragioni metodologiche e strategiche che avevano spinto Haldane e molti altri a contrastare, frenandone gli sviluppi, la teoria neurologica del controllo della ventilazione polmonare e al programma di ricerca sulla localizzazione dei centri del respiro. Questo settore di indagine, così, era praticamente fermo all'imprecisa teoria dell'inibizione periodica formulata nel 1887 da Max Marckwald. Dimostrando che era possibile indurre uno spasmo inspiratorio attraverso la resezione del ponte e del nervo vago, Marckwald aveva dedotto l'esistenza di un centro nervoso situato vicino al collicolo inferiore al quale afferiscono informazioni dal vago e che inibisce i movimenti inspiratori.

Le ricerche di Marckwald venivano successivamente riprese dal fisiologo inglese Thomas William Lumsden (1874–1953) nei primi anni venti. Nel 1923, usando la tecnica dell'ablazione, Lumsden localizzava quattro centri respiratori nella regione dorsolaterale del ponte: il centro per l'espiazione e quello per l'inspirazione e altri due siti encefalici cui dava rispettivamente il nome di centro apneustico, in quanto ritenuto responsabile degli impulsi a trattenere il respiro, e di centro pneumotassico, in quanto secondo Lumsden capace di inibire gli impulsi apneustici anche in seguito alla sezione vagale¹¹.

Ma un altro fatto evidente e da lungo tempo noto, rimaneva da spiegare, la maniera in cui l'ipossia stimolava la ventilazione polmonare. Le classiche ricerche quantitative sulla regolazione chimica del respiro non avevano mai identificato strutture specificamente sensibili alla pressione parziale dell'ossigeno nel sangue. Eppure era evidente che un meccanismo in grado di valutare la deficienza di ossigeno dovesse esistere, come dimostrava eloquentemente l'iperventilazione che si produce salendo ad alta quota. Il problema era stato affrontato, senza particolare fortuna, anche dal fisiologo inglese Joseph Barcroft (1872-1947) nel corso di varie spedizioni scientifiche ad alta quota (Teneriffe, 1910; Monte Rosa, 1911; Cerro de Pasco, 1921-22) tese, però, soprattutto a chiarire le proprietà dell'emoglobina e la grande controversia secrezione contro diffusione dell'ossigeno nei polmoni. La soluzione cominciò, tuttavia, a delinearsi verso la metà degli anni Venti, con gli studi di Jean-François Heymans, fondatore dell'istituto di farmacologia di Gand, e di suo figlio, Corneille (1892-1968). Usando il metodo di Leon Frédéricq della perfusione incrociata, i due avevano dimostrato che era possibile aumentare il ritmo respiratorio della testa di un cane, isolata dal corpo con l'eccezione del nervo vago, perfondendola con il sangue di un altro cane reso artificialmente ipossico o ipercapnico. Come già era successo per Frédéricq, tale evidenza, ovviamente restringeva l'ambito anatomico da indagare per l'individuazione dei siti sensibili alla pressione di ossigeno nel sangue, dimostrando che la loro localizzazione era da ricercare nella regione del corpo che comprende collo e testa. In soli due anni, nel 1928, Corneille Heymans ed i suoi collaboratori di Gand giungono ad isolare il sito specifico di tale sensibilità. Essi

¹¹ Lumsden, T. Observations on the respiratory centres in the cat. *J. Physiol. Lond.* 57: 153-160, 1923; Observations on the respiratory centres. *J. Physiol. Lond.* 57: 354-367, 1923. The regulation of respiration I. *J. Physiol. Lond.* 58: 81-91, 1923. Effects of bulbar anaemia on respiratory movements. *J. Physiol. Lond.* 59: LVII-LX, 1924.

dimostrano che per ottenere iperventilazione è sufficiente perfondere soltanto il seno carotideo con sangue o soluzione fisiologica a bassa concentrazione di O₂. Le vie nervose per la realizzazione di tale riflesso sono il vago ed il nervo del seno. Heymans, infatti, dimostrava che dopo la sezione di queste fibre si ha la scomparsa della sensibilità per la concentrazione di ossigeno, mentre permane quasi intatta quella per il CO₂.

L'importanza delle ricerche sui chemocettori nella regolazione della respirazione che Corneille Heymans condurrà, a partire da questa scoperta, durante la sua precoce carriera di docente a Gand, venne sancita ufficialmente dalla comunità scientifica nel 1938 con l'assegnazione del premio Nobel.

La regolazione della temperatura

La ricerca sui meccanismi della regolazione della temperatura iniziava nel 1885 con le osservazioni di Eduard Aronsohn e Julius Sachs, due studenti di medicina all'Università di Berlino. I due dimostravano che la microlesione con ago ovvero la stimolazione elettrica di una piccola zona del tessuto encefalico a livello della parte mediana ed anteriore del terzo ventricolo causavano un considerevole aumento della temperatura. Negli stessi anni, Isaac Ott (1847-1916) a Philadelphia confermava le evidenze dei due tedeschi usando la tecnica della stimolazione ed individuando però in maniera errata anche altri centri implicati nella termoregolazione a livello dello striato e del talamo. Pur imprecise, le ricerche di Aronsohn, Sachs e contraddittorie quelle di Ott indicavano chiaramente il coinvolgimento del cervello nella termoregolazione. Questa idea tuttavia stentava ad affermarsi. Nel 1912, ancora dopo circa trent'anni, ad esempio, Ludolf von Krehl (1868-1937) e Robert Georg Isenschmid (1882-?) ribadivano che solo la resezione delle fibre encefaliche, ovvero l'ablazione dei centri candidati e non la stimolazione potevano dimostrare l'eventuale funzione termoregolatrice di eventuali nuclei del cervello. Sulla base di questa convinzione, i due conducevano nel ratto una serie di ablazioni di tessuto dalla base del cervello, più caudalmente rispetto alle regioni indagate da Aronsohn e Sachs. Con questa procedura essi dimostravano nel 1912 che la lesione di due piccole aree laterali del peduncolo cerebrale provocava una brusca caduta di temperatura negli animali¹². Krehl e Isenschmid avevano così scoperto l'esistenza di un secondo centro cerebrale per la termoregolazione le cui specifiche funzioni e la cui diversità rispetto al centro individuato da Aronsohn e Sachs dovevano chiarirsi nei decenni successivi.

Nel 1912, Henry Grey Barbour (1886-1943), studente americano di farmacologia specializzando a Vienna presso il laboratorio di Hans Meyer, precisava il ruolo fisiologico del centro termoregolatore individuato da Aronsohn e Sachs. Meyer aveva precedentemente dimostrato che la somministrazione di un antipiretico contrastava l'ipertermia della lesione Aronsohn-Sachs. Egli supponeva che il caldo o il freddo mimassero le azioni farmacologiche delle sostanze piretiche o antipiretiche agendo direttamente sul centro di Aronsohn-Sachs. Sulla base dell'ipotesi di Meyer, Barbour dimostrava che il raffreddamento o il riscaldamento diretto di questo centro attraverso la perfusione con acqua provocava rispettivamente l'innalzamento e l'abbassamento della temperatura nelle cavie¹³. Nello stesso lavoro, tra l'altro, Barbour evidenziava un meccanismo regolatorio più vasto ed integrato, dimostrando che le variazioni di temperatura a livello del centro Aronsohn-Sachs modulavano allo stesso tempo il comportamento dei vasi sanguigni, la respirazione e la perspirazione cutanea. La ricerca

¹² Isenschmid R. Krehl L. Über den Einfluss des Gehirns auf die Wärmeregulation. Arch. Exp. Pathol. Pharmacol., 1912, 70:109-134.

¹³ Barbour HG. Die Wirkung unmittelbarer Erwärmung und Abkühlung der Wärmezentra auf die Körpertemperatur. Arch. Exp. Pathol. Pharmacol. 1912, 70:1-15.

su questo ambito più vasto di aggiustamenti venne proseguita verso la metà degli anni '30 dal formidabile gruppo statunitense di ricercatori della Northwestern Medical School di Chicago coordinato da Horace Winchell Magoun (1907-1991).

Il protocollo sperimentale del gruppo di Magoun prevedeva la sostituzione della cannula per l'irrigazione del centro di Aronsohn-Sachs con stimoli elettrici ad alta frequenza. Ciò permetteva di applicare il riscaldamento ad un'area maggiormente circoscritta e precisa ed inoltre permetteva di variare e controllare più finemente l'intensità dello stimolo termico applicato¹⁴. Eseguito sui gatti, l'esperimento di Magoun dettagliava con precisione la localizzazione del centro cerebrale termosensibile, restringendo l'area indicata da Aronsohn e Sachs.

Ma qual'era allora la funzione del secondo centro cerebrale per la termoregolazione individuato da Krehl? Era un nucleo nervoso termosensibile come l'altro oppure una struttura di collegamento ed analisi? Un decisivo contributo al chiarimento di questi interrogativi venne nel 1940 dal lavoro condotto da Allan Hemingway (1902-1972) all'istituto di fisiologia dell'Università del Minnesota. Per primo Hemingway eseguiva l'esperimento cruciale, provando a riscaldare con una sonda, come aveva fatto il gruppo di Magoun, il centro individuato da Krehl. L'esperimento dava esito negativo, il centro di Krehl era insensibile alle variazioni locali di temperatura e tuttavia la sua integrità era necessaria per alcune risposte motorie autonome agli stimoli termici, come i brividi.

I processi di mantenimento della costanza della temperatura venivano frattanto indagati anche su versanti fisiologici diversi da quelli nervosi. Nelle sue spedizioni di ricerca in alta quota, condotte tra il 1921 e il 1922, Joseph Barcroft (1872-1947) aveva osservato che il volume del sangue variava in funzione della temperatura. Sorpreso dal dato, al suo ritorno dalla spedizione metteva a punto un esperimento per l'esatta determinazione del volume del sangue in rapporto alle variazioni di temperatura in un locale con atmosfera artificiale. I risultati così ottenuti confermavano quanto emerso dai dati ottenuti con la spedizione scientifica¹⁵. Barcroft dimostrava che l'innalzamento della temperatura provoca una diluizione del sangue e quindi un aumento del volume, fenomeno che permette così a sua volta un potenziamento della traspirazione ed un più efficace raffreddamento. Al contrario, temperature basse inducono la riduzione del volume di sangue circolante, limitando la dispersione del calore corporeo.

Qualche anno più tardi Cannon portava invece alla luce le dimensioni umorali del controllo della temperatura e la reciproca integrazione tra meccanismi endocrini e funzioni del sistema nervoso autonomo. Egli dimostrava che l'asportazione della midollare del surrene amplificava grandemente gli altri meccanismi autonomi funzionali a compensare l'abbassamento di temperatura del corpo come i brividi, l'orripilazione, la vasocostrizione, in quanto impediva l'iperglicemia e l'aumento del metabolismo¹⁶. A partire dalla metà degli anni '50, le ricerche sulla farmacologia della termoregolazione subivano un'accelerazione, con l'individuazione di alte concentrazioni di serotonina, sostanza P e noradrenalina – allora chiamata simpatina - nelle zone ipotalamiche e del tronco cerebrale implicate nel controllo della temperatura corporea. Successivamente, verso la metà degli anni '60 infine iniziavano ad emergere le evidenze sui neurotrasmettitori attivi a livello delle sinapsi dei centri termoregolatori nell'ipotalamo e a livello del tronco cerebrale¹⁷. In tal modo il

¹⁴ Magoun HW, Harrison F, Brobeck JR, Ranson SW. Activation of heat loss by local heating of the brain. *J. Neurophysiol.* 1938, 1:101-114.

¹⁵ Barcroft J, Meakins JC, Davies HW, Duncan Scott JM, Fetter WJ. On the relation of external temperature to blood volume. *Phil. Trans.* 1923, 211B:455-464

¹⁶ Cannon WB, Querido A, Britton SW, Bright EM. Studies on the conditions of activity in endocrine glands XXI. The role of adrenal secretion in the chemical control of body temperature. *Amer. J. Physiol.*, 1926-1927, 79:466-507

¹⁷ Feldberg, W, and Myers RD. A new concept of temperature regulation by amines in the hypothalamus. *Nature* 200: 1325, 1963; Cooper, KE, Cranston WI, and Honour AJ. Effects of intraventricular and intra-hypothalamic injection of noradrenaline and 5-HT on body temperature in conscious rabbits. *J Physiol (Lond)* 181: 852-864, 1965

controllo della temperatura veniva messo in relazione al campo più vasto dei processi di regolazione fisiologica mediati e reciprocamente coordinati dal sistema endocrino e dal sistema nervoso.

Il concetto di omoestasi

Walter Bradford Cannon (1871-1945) si era avvicinato allo studio dei processi autoregolativi indagando le influenze del sistema nervoso e delle emozioni sui processi digestivi. Tra i primi ad applicare i raggi X nelle indagini sperimentali in fisiologia, nel 1896 Cannon aveva osservato che le emozioni negli animali inibivano i movimenti del canale alimentare. Successivamente, nel 1911, aveva invece dimostrato che era possibile indurre la secrezione di adrenalina con stimoli connotati affettivamente. Le numerose ricerche sulla fisiologia dell'emozione condotte da Cannon negli anni successivi, ponevano in grande evidenza le funzioni del sistema nervoso simpatico. Cannon accertava che tale divisione del sistema nervoso autonomo è responsabile della reazione viscerale che si innesca nelle esperienze emotive ed alle situazioni d'emergenza in cui viene posta in gioco l'integrità e la sopravvivenza dell'organismo. Raccordando i dati acquisiti con le diverse sperimentazioni, Cannon rilevava e descriveva l'azione del sistema nervoso simpatico nell'innescamento e nel coordinamento delle modificazioni neuroendocrine e circolatorie finalizzate a «preparare l'organismo alla lotta o alla fuga», la risposta fisiologica integrata che Cannon denominò "reazione d'allarme". Le indagini di Cannon chiarivano peraltro la cooperazione e l'integrazione fisiologica del sistema nervoso simpatico e l'adrenalina trasporta impulsi nervosi che accelerano il ritmo cardiaco, provocano contrazione dei vasi sanguigni, dilatano gli alveoli, mobilitano le riserve di zuccheri dal fegato, causano l'arresto delle funzioni digestive ed infine provocano il rilascio di adrenalina dalla midollare del surrene, producendo così un'altra serie di effetti energizzanti. Dato che l'adrenalina, viaggiando nel torrente sanguigno, raggiunge tutti i compartimenti corporei e dato che essa possiede le stesse azioni degli impulsi nervosi simpatici sugli organi interni, Cannon propose di intendere questa cooperazione fisiologica come un unico sistema funzionale che definì "meccanismo simpatico-adrenale". L'interesse di Cannon per le funzioni di tale meccanismo venne, peraltro, alimentato dalle ricerche condotte durante la prima guerra mondiale come ufficiale dell'U.S. Army Medical Corps.

Questa guerra aveva drammaticamente imposto ai medici di tutte le nazioni un programma di ricerca già ben avviato negli Stati Uniti e a cui Cannon aveva dato un notevole contributo, la definizione dei meccanismi autonomi responsabili delle reazioni emostatiche che si osservano nelle emorragie.

Nel 1914, Cannon e Mendenhall avevano dimostrato che la secrezione di adrenalina indotta dalla stimolazione dei nervi splanchnici del simpatico produce l'accelerazione dei processi emostatici. Tale evidenza era uno dei punti fermi di questa ricerca, tesa a mettere a punto strumenti efficaci di pronto soccorso per i militari feriti fra i quali si contavano numerose morti per shock circolatorio.

Questi meccanismi di compensazione e salvaguardia sono fondamentali per l'economia vitale degli organismi, in quanto «assicurano la condizione primaria ed essenziale per la vita delle cellule, cioè a dire, il mantenimento e l'uso effettivo dell'ambiente interno stesso.» La velocità e l'efficienza con cui tali aggiustamenti vengono eseguiti in condizioni di estremo pericolo illustrava eloquentemente, secondo Cannon, a quali gradi di rendimento arriva il controllo integrato simpatico-adrenale.

Parallelamente a tali indagini Cannon effettuava una vasta serie di ricerche sulle influenze del meccanismo simpatico-adrenale e del sistema endocrino e più in generale sostanzialmente su tutta la gamma di fenomeni della regolazione organica in condizioni

normali e di emergenza, come, ad esempio, la velocità del metabolismo, il controllo della temperatura corporea e quello della concentrazione di zuccheri, grassi, calcio e proteine nel sangue, l'aggiustamento della ventilazione polmonare, del battito cardiaco e della pressione arteriosa. I dati così ottenuti dimostravano incontestabilmente che tutte queste regolazioni non si realizzano soltanto per mezzo di meccanismi di controllo "localizzati", ma soprattutto attraverso il coordinamento e l'integrazione di molte componenti fisiologiche. Tali risultati, inoltre, evidenziavano la preminenza del meccanismo simpatico-adrenale in questa complessa struttura di regolazioni grazie alla quale, secondo Cannon, l'organismo può agire come sistema integrato e può rispondere efficacemente alle sfide che l'ambiente gli pone.

Cannon aveva così realizzato l'ideale di ricerca indicato da Bernard, andando oltre l'ambito specifico dei controlli realizzati in seno ad ogni specifica funzione fisiologica, riportando e in tal modo raccordando i singoli meccanismi autoregolativi al processo fondamentale della costanza dell'ambiente interno. Diventava allora possibile per Cannon superare e focalizzare le idee di Bernard con l'introduzione di un nuovo termine teorico, il concetto di omeostasi, proposto nel 1925 in occasione del giubileo del fisiologo francese Charles Richet.¹⁸

«Ci si potrebbe riferire alle condizioni costanti che sono mantenute nell'organismo col termine equilibrio. Questa parola, tuttavia, è usata nel suo preciso significato soltanto quando la si applica all'interpretazione di stati fisico-chimici relativamente semplici di sistemi chiusi dove forze conosciute si bilanciano. I processi fisiologici coordinati che mantengono lo stato stazionario negli esseri viventi sono così complessi e peculiari - implicando il lavoro integrato del cervello e dei nervi, del cuore, dei polmoni, dei reni e della milza - che ho suggerito una speciale definizione per questi stati, *omeostasi*. La parola non implica qualcosa di immobile e fisso, una stagnazione. Essa vuole indicare una condizione, una condizione che può variare, ma relativamente costante.»¹⁹

La nozione di omeostasi ha rapidamente valicato l'ambito delle scienze biomediche, divenendo persino un termine chiave dell'ingegneria. Essa oggi viene comunemente usata per la spiegazione dei fenomeni biologici a tutti i livelli, dalla biologia molecolare, alla fisiologia, alla psicologia, ma rappresenta, al contempo, un valido principio per l'interpretazione della dinamica di macrosistemi molto complessi come gli ambienti ecologici e la società umana.

Tra le applicazioni teoriche più fruttuose del concetto di omeostasi vanno senz'altro annoverati quelle proposte in genetica e nella biologia dello sviluppo da Isidor Michael Lerner (1910-1977) e Conrad Hal Waddington (1905-1975). Nella sua monografia del 1954, *Genetic Homeostasis*, Lerner discuteva i meccanismi dell'interazione genica, evidenziando l'importanza del coadattamento tra combinazioni di geni, il ruolo dei processi di regolazione interna nel genotipo, e quindi del *milieu* genetico, piuttosto che dei singoli geni nelle traiettorie di sviluppo e nella fitness degli individui²⁰. Come nel caso dell'omeostasi fisiologica descritta da Cannon, anche il genotipo, secondo Lerner, sarebbe in grado attraverso meccanismi sistemici come l'interazione tra geni e complessi di geni e sulla base dell'eterozigosi, di contrastare le azioni di disturbo che l'ambiente esterno inevitabilmente produce sui processi epigenetici e mantenere così stabilizzati i percorsi dello sviluppo entro una norma di variazione. A livello di popolazione, invece, l'omeostasi genetica, nella formulazione di Lerner, rappresenterebbe l'effetto di meccanismi tesi alla

¹⁸ Cannon, W.B. Physiological regulation of normal states: some tentatives concerning biological homeostatics. In A Charles Richet, ed. Auguste Pettit, Edition Médicales, Paris, 1926, pp. 91-93; *Trans. Cong. Amer. Physicians and Surgeons*, 1925, 12, pp. 31 sg.

¹⁹ W.B. Cannon, *The wisdom of the body*, Norton & Co., New York, 1963 (rist. della II edizione pubblicata nel 1939), p. 24.

²⁰ Lerner IM. *Genetic homeostasis*. John Wiley & Sons, New York, 1954

stabilizzazione nella composizione del pool genico e quindi in grado di determinare l'ampiezza delle possibilità di risposta alle pressioni selettive.

Già in precedenza Waddington aveva riconosciuto la caratteristica tendenza alla stabilità dei processi epigenetici. Come successivamente faceva Lerner, Waddington individuava nelle relazioni complesse all'interno del genotipo e di quest'ultimo con l'ambiente l'origine della resistenza alla modificazione delle traiettorie morfogenetiche. Il carattere canalizzato o tamponato dei processi epigenetici rappresentava secondo Waddington un fenomeno di mantenimento dell'equilibrio simile a quello descritto da Cannon. A differenza dell'omeostasi tuttavia, specificava Waddington l'oggetto che si mantiene costante non è un parametro singolo, la temperatura, il pH, la pressione arteriosa, ma un corso di mutamento esteso nel tempo, una traiettoria. Così, a differenza dell'omeostasi fisiologica in cui sono in gioco stabilizzazioni di stato, lo sviluppo dell'organismo rappresentava secondo Waddington una stabilizzazione di flusso. Per indicare questa peculiare dinamica egli proponeva una nuova nozione più generale dell'omeostasi, l'omeoresi, un concetto più capace rispetto all'omeostasi di rappresentare i fenomeni dei sistemi dinamici strutturalmente stabili come gli organismi viventi.

Integrazione, informazione e controllo nel sistema nervoso

La prima ipotesi sulla mediazione chimica nell'impulso nervoso è legata alle ricerche sui meccanismi delle regolazioni cardiovascolari, in particolare alla scoperta dell'azione dell'estratto di ghiandola surrenale sul sistema cardiovascolare fatta da Oliver e Schäfer nel 1894. Nel tentativo di interpretare i meccanismi fisiologici di tale fenomeno, il fisiologo inglese Thomas Renton Elliot (1877-1961), ipotizzava nel 1904 che i nervi del sistema nervoso simpatico potessero agire liberando adrenalina.

Walter Dixon (1871-1931) fu invece il primo ricercatore a tentare la ricerca sulla farmacologia del sistema nervoso parasimpatico, con un originale esperimento sull'innervazione vagale del cuore realizzato nel 1906. Era noto all'epoca che la stimolazione del nervo vago produceva una inibizione del ritmo cardiaco. Dixon raccolse il perfusato di un cuore di cane dopo aver stimolato il nervo vago per 30 minuti, Applicando successivamente il perfusato su un cuore di rana isolato, Dixon rilevava il rallentamento del battito e riportava l'effetto antagonizzante della muscarina. Dixon concludeva che i due fenomeni erano imputabili ad uno stesso meccanismo farmacologico, ma erroneamente attribuiva al cuore stesso l'origine di questa sostanza attiva sulle terminazioni nervose.²¹ Le evidenze necessarie non erano così state sufficienti alla scoperta della mediazione chimica della trasmissione vagale, troppo isolato il ricontro e ancora remota l'ipotesi di una dimensione farmacologica del segnale nervoso.

In questo stesso periodo, John Newport Langley (1852-1925), fisiologo di Cambridge e direttore del *Journal of Physiology*, elaborava un complesso modello teorico di trasmissione nervosa chimicamente mediata.²² Nei suoi studi sull'antagonismo fra nicotina e curaro nelle terminazioni nervose del muscolo di rana, Langley aveva potuto osservare che l'effetto stimolante della nicotina persisteva anche dopo la denervazione. Questo fatto costituiva una notevole anomalia per la teoria elettrica della trasmissione nervosa e dell'eccitazione muscolare. Langley interpretava il fenomeno ipotizzando che la mediazione chimica dell'impulso nervoso si realizzerebbe attraverso l'azione di una "sostanza recettiva" che reagisce ai farmaci secondo le leggi della chimica.²³ Il concetto

²¹ W.E. Dixon, «On the mode of action of drug», *Med. Mag.*, 1907, 16, pp. 454-57.

²² J.N. Langley, «On nerve endings and on special excitable substances in cells», *Proc. R. Soc.*, 1906, 78 B, pp. 170-74.

²³ idem, «On the contraction of muscle, chiefly in relation to the presence of "receptive" substances. I.», *J. Physiol.*, 1907, 36, pp. 347-384; la parte II, III di tale studio saranno pubblicate da Langley in questa stessa rivista nel 1908, mentre la IV parte uscirà nel 1909.

elaborato da Langley fu fondamentale per la definizione della nozione di recettore sviluppata successivamente dall'immunologo tedesco Paul Ehrlich (1854-1915) e posta a base della sua spiegazione della specificità immunologica.

Henry Hallet Dale (1875-1968), altro formidabile ricercatore, allievo di Langley, cominciava in quegli anni ad affrontare il problema della trasmissione neurochimica. Lavorando come ricercatore presso i laboratori dell'industria farmaceutica Burroughs-Wellcome, Dale scopriva nel 1906 che la segale cornuta antagonizzava l'azione dell'adrenalina e l'attivazione simpatica. Quattro anni più tardi, Dale studiava, con George Barger, l'azione della noradrenalina, rilevando che essa ha un'attività eccitatrice superiore sulle fibre del sistema nervoso simpatico a quella dell'adrenalina. Tali evidenze, nel contesto della nascente idea della trasmissione chimica, suggerivano che, piuttosto dell'adrenalina, il mediatore nervoso fosse la noradrenalina. Nel loro resoconto, Berger e Dale discutono, in effetti, una simile possibilità, ma tale ammina, sintetizzata nel 1904, all'epoca era poco più di una curiosità chimica, non essendo mai stata rilevata la sua presenza all'interno del corpo. Soltanto nel 1946, la noradrenalina venne identificata dal farmacologo svedese Ulf Svante von Euler (1905-1983) con il neurotrasmettitore adrenergico.

L'acetilcolina era un'altra delle grandi curiosità chimiche del periodo. Sintetizzata nel 1894, la sua azione era stata indagata da Reid Hunt e René Taveau, che avevano scoperto il suo potente effetto ipotensivo, la sua capacità di rallentare il ritmo cardiaco e avevano ipotizzato la sua natura endogena. Anche Dale era interessato all'indagine dell'attività farmacologica dell'acetilcolina, da lui ritrovata in estratti di segale cornuta. Nel 1914, Dale descriveva in un resoconto come l'acetilcolina riproducesse in maniera impressionante gli stessi effetti della stimolazione parasimpatica. Abolendo tali reazioni muscariniche con somministrazione di atropina, inoltre, Dale dimostrava l'azione nicotinomimetica dell'acetilcolina sulle cellule gangliari e della midollare surrenale. Dale aveva, quindi, rilevato esattamente la duplicità dell'azione dell'acetilcolina sul sistema nervoso autonomo. Come per la noradrenalina, mancava tuttavia la prova che l'acetilcolina fosse un prodotto endogeno, pertanto Dale si limitò soltanto ad ammettere l'importanza di tale sostanza per la comprensione del funzionamento del sistema nervoso autonomo, senza speculare su una possibile mediazione chimica. Come raccontava egli stesso, peraltro, «il clima generale delle opinioni dei fisiologi rimaneva ancora scettico ed esistente [...] l'idea della trasmissione nervosa mediata chimicamente era come una signora che i neurofisiologi frequentavano in privato ma con cui erano riluttanti a farsi vedere in pubblico».²⁴

Le evidenze necessarie a dimostrare la fondatezza dell'ipotesi della mediazione chimica della neurotrasmissione furono fornite nel dopoguerra da Otto Loewi (1873-1961), professore di farmacologia a all'università di Graz, in Austria. Loewi mise a punto un protocollo sperimentale che ricalcava quello usato da Dixon. Stimolando le fibre vagali del cuore di una rana, Loewi isolava una sostanza che, applicata ad un secondo cuore di rana, sembrava riprodurre l'inibizione vagale e perciò fu chiamata *Vagusstoff* (*sostanza vagale*).²⁵ Con la somministrazione di atropina, poi, Loewi dimostrò che si impediscono gli effetti della stimolazione vagale sul cuore donatore ma non la liberazione della sostanza vagale. Trasferendo il perfusato ottenuto con la stimolazione vagale del cuore atropinizzato su un secondo cuore, infatti, egli riusciva ad indurre comunque l'inibizione. L'interpretazione di questi dati fatta da Loewi era corretta: la trasmissione nervosa è un fenomeno neuromorale mediato a livello delle terminazioni nervose da sostanze con azione farmacologica potente e specifica. Loewi, peraltro, aveva dimostrato che la

²⁴ idem, «The beginnings and prospects of neurohumoral transmission», *Pharmacol. Rev.*, 1954, 6, pp. 7-13.

²⁵ O. Loewi, «Über humorale Übertragbarkeit der Herznervenwirkung», *Pflüger Arch.*, 1921, 189, pp. 239-42.

sostanza vagale viene inattivata per incubazione con muscolo cardiaco triturato. Tale inattivazione è prevenuta dall'esperina, un alcaloide che potenzia la stimolazione vagale. Erano evidenze decisive per la successiva scoperta della colinesterasi, l'enzima che inattiva l'acetilcolina negli spazi intersinaptici.

Nel 1929, Henry Dale ed Harold Dudley rilevavano la presenza di istamina e acetilcolina nella milza del bue e del cavallo, dimostrando finalmente che l'acetilcolina non era soltanto un prodotto di sintesi ma anche una sostanza organica. In tal modo, veniva a cadere, definitivamente, l'obiezione più forte all'idea che l'acetilcolina fosse un mediatore chimico degli impulsi nervosi. Intorno agli anni '30, di conseguenza, la teoria neuromorale divenne l'oggetto di indagine di molti laboratori di ricerca. Una serie di studi condotti da Dale sui muscoli denervati, ad esempio, dimostravano che l'iniezione o l'applicazione di acetilcolina riproducono esattamente la stimolazione naturale operata per via nervosa. Altri studi evidenziavano l'azione vasodilatatrice dell'acetilcolina su vasi denervati. In base a questi nuovi riscontri, Dale propose che l'acetilcolina potesse costituire il mediatore chimico del sistema parasimpatico e che tutti i fenomeni di trasmissione del segnale nervoso avvenissero attraverso mediazione chimica. L'ipotesi di Dale tuttavia stentava ad imporsi nella comunità scientifica. Per accettare definitivamente la "rivoluzione" nella teoria della trasmissione nervosa, i fisiologi chiedevano un'evidenza conclusiva, l'esperimento cruciale della dimostrazione del rilascio di acetilcolina da parte delle terminazioni nervose. Le difficoltà tuttavia rimanevano enormi. La presenza dell'acetilcolina era infatti, difficile da rilevare con gli strumenti dell'epoca, perché nel processo di trasmissione nervosa essa è ovviamente liberata in quantità minuscole e perché tali quantità, in aggiunta, sono rapidamente scisse ed inattivate dalla colinesterasi.

Un metodo efficace per determinare la presenza di acetilcolina durante la stimolazione nervosa venne messo a punto nel 1933 da Wilhelm Feldberg (1900-1993), un farmacologo tedesco chiamato da Dale al National Institute for Medical Research di Hampstead. Applicando il suo nuovo metodo, Feldberg, in collaborazione con John Gaddum (1900-1965), dimostrò, nel 1934, il rilascio di acetilcolina a livello delle sinapsi gangliari simpatiche. Il lavoro di Feldberg e Gaddum era inoltre particolarmente significativo in quanto dimostrava per la prima volta che un neurotrasmettitore aveva come bersaglio un altro neurone e non soltanto una fibra della muscolatura liscia o una ghiandola. Questi risultati iniziavano finalmente a sostanziare la descrizione funzionale delle giunzioni tra neuroni che Charles Scott Sherrington (1857-1952) aveva proposto nel 1897 introducendo il concetto di sinapsi²⁶. Egli era infatti convinto che la contiguità e la non continuità delle cellule descritte istologicamente da Cajal costituissero la base per processi di trasduzione e modulazione del segnale nervoso non ancora chiari.

Il nuovo settore di indagini aperto da Loewi e Dale doveva rivelarsi uno dei più prolifici programmi di ricerca di tutta la fisiologia. Col progresso delle tecniche sperimentali, soprattutto istologiche, nuovi neurotrasmettitori vennero rapidamente scoperti nel sistema nervoso centrale. La noradrenalina, come abbiamo detto, identificata come neurotrasmettitore nel 1947; la serotonina, già isolata nell'intestino da Vittorio Ersparmer nel 1937 ma allora chiamata enteramina, veniva individuata isolata e cristallizzata come sostanza vasoconstrictrice nel siero da Irvin Heinly Page (1901-1991) e da Maurice M. Rapport e perciò chiamata serotonina nel 1948; la dimostrazione del ruolo dell'acido gamma-aminobutirrico (GABA) nella fisiologia delle sinapsi inibitorie encefaliche da Harry Grundfest (1904-1983) presso i Marine Biological Laboratories a Woods Hole nel Massachusetts, nel 1958, lo stesso anno in cui Arvid Carlsson (1923-) dimostrava la presenza della dopamina nel cervello.

²⁶ Charles Scott Sherrington, "The central nervous system", vol. 3, in Michael Foster, *A Text Book of Physiology*, London, 1897, VII ed., p. 929.

Neurosecrezione e neuroendocrinologia

L'accertamento della natura chimica della trasmissione nervosa, aveva indotto ad equiparare, dal punto di vista funzionale, i neuroni alle cellule endocrine. L'attività del sistema nervoso si svolgerebbe, in sostanza, con meccanismi di trasporto e trasduzione dell'informazione analoghi a quelli usati dal sistema endocrino.

La prima idea dell'esistenza di un'attività neurosecretoria diversa da quella localizzata a livello sinaptico venne suggerita nel 1928 dalle ricerche condotte da Ernst Scharrer (1905—1965) per la preparazione della sua tesi di dottorato con Karl von Frisch a Monaco. L'ipotesi veniva formulata sulla base dell'osservazione della presenza di grandi neuroni fortemente vascolarizzati e dotati di granuli secretori nell'ipotalamo di alcuni pesci teleostei. Tali evidenze morfologiche furono ulteriormente sostanziate da indagini su altri animali, uomo compreso, e da osservazioni citologiche che testimoniavano la sostanziale identità tra gli organelli intracellulari individuati da Scharrer e quelli già dimostrati nelle cellule endocrine non nervose. Questi studi, inoltre, avevano dimostrato che il materiale secretorio prodotto da questi "neuroni gigantocellulari", localizzati nei nuclei sopraottico e paraventricolare dell'ipotalamo dei Mammiferi, è presente nelle fibre assoniche che conducono al lobo posteriore dell'ipofisi. Soltanto nel 1951-52, tuttavia, W. Hild e W.A. Stotler riuscirono a specificare, rispettivamente sulle rane e sui gatti, l'esistenza e la direzione di un flusso assonico in queste fibre, dimostrando definitivamente che gli ormoni rilasciati dalla neuroipofisi, ossitocina e vasopressina sono elaborati a livello ipotalamico dai neuroni gigantocellulari.

Queste evidenze furono certo fondamentali per lo sviluppo del concetto di neurosecrezione e per la comprensione delle funzioni endocrine svolte dal sistema nervoso, ma non ponevano realmente in evidenza le interazioni e le integrazioni tra il controllo organico operato in via ormonale e quello realizzato in via nervosa. I prodotti rilasciati dai neuroni gigantocellulari dell'ipotalamo, infatti, agiscono in via diretta sugli organi bersaglio come qualunque altro ormone effettore del sistema endocrino.

Diverso è il caso dell'interazione tra sistema nervoso centrale, adenoipofisi e ghiandole periferiche in atto nel controllo di alcune funzioni fisiologiche come, ad esempio, la riproduzione. Il sistema riproduttivo, infatti, come dimostrò Francis Hugh Adam Marshall (1878-1949) nel 1936, è soggetto, in special modo sotto l'aspetto della periodicità, all'influenza dei fattori ambientali, cioè a dire, da informazioni recettoriali che afferiscono al sistema nervoso centrale e da esso vengono elaborate. Un'interazione triangolare tra ipotalamo, ipofisi e gonadi, era già stata, peraltro, ipotizzata nel 1932 da Walter Holweg e Karl Junkmann. Essi avevano evidenziato che una lesione ipotalamica nei cani, eseguita senza danneggiare l'ipofisi, poteva condurre ad un'atrofia genitale. Nel 1937, l'endocrinologo inglese Geoffrey Wingfield Harris (1913-1971) riusciva ad indurre l'ovulazione nelle femmine di ratto, un fenomeno che normalmente si dà soltanto al momento del coito, attraverso la stimolazione elettrica dell'ipotalamo e dell'ipofisi.

Il problema che si poneva ora ai ricercatori era quello dell'individuazione dei meccanismi con i quali si esercita l'interazione tra ipotalamo e ipofisi anteriore. Era apparso subito improbabile, data l'assenza di fibre nervose all'interno dell'adenoipofisi, che essi si realizzassero a livello nervoso. Era stata dimostrata, invece, nel 1933 la presenza di un letto vascolare venoso tra ipotalamo e adenoipofisi lungo l'infundibolo ipofisario con un flusso diretto dalla prima alla seconda di queste strutture: il sistema portale ipotalamo-ipofisario. L'importanza di questo sistema, tuttavia, venne intuita solo dieci anni più tardi da John Davis Green (1917-1964) e Geoffrey Harris, i quali avevano eseguito studi dettagliati di questo distretto su vari Mammiferi. Essi furono i primi a suggerire che le funzioni adenoipofisarie potessero essere regolate dal sistema nervoso centrale «attraverso fattori

umorali rilasciati lungo il sistema portale ipofisario».27 Tale idea, pertanto, complicava ulteriormente la gerarchia dell'organizzazione endocrina, situando a livello centrale una nuova stazione superiore di controllo a retroazione.

L'ipotesi di Green ed Harris si rivelava in breve corretta. Nel 1955, infatti, Murray Saffran, Andrew Schally e B.G. Benfey, dimostravano sperimentalmente l'esistenza del primo fattore di controllo ipotalamico, il *releasing factor* - questo fu il nome che essi diedero ai fattori umorali ipotizzati da Green e Harris - della corticotropina. Ciò scatenò la caccia ai *releasing factors* relativi agli altri ormoni adenoipofisari. L'esistenza del fattore di liberazione dell'ormone luteinizzante veniva provata nel 1960 da S.M. McCann, S. Taleisnik e Friedmann, la sua struttura fu determinata nel 1971 da Schally. La presenza del fattore di rilascio della tireotropina fu dimostrata nel 1961 da V. Schreiber e collaboratori. Schally, in seguito, riuscì ad isolare e sintetizzare tale ormone, rispettivamente nel 1966 e nel 1969. Nel giro di pochi anni, in tal modo, venne provata conclusivamente l'esistenza di un fattore di rilascio ipotalamico di natura peptidica (i peptidi sono macromolecole costituite da un numero limitato di aminoacidi) per ogni ormone dell'ipofisi anteriore, ma fu scoperta anche la presenza di prodotti ipotalamici con azione inibente la secrezione di quattro ormoni di tale ghiandola: la prolattina, l'ormone della crescita, la tireotropina e la melanotropina.

Agli inizi degli anni '70, dunque, era disponibile un dettaglio piuttosto ricco di conoscenze sui meccanismi con cui il sistema nervoso centrale presiede alle funzioni endocrine. Nello stesso periodo, prendeva corpo la conoscenza delle influenze esercitate sul sistema nervoso centrale dai messaggeri endocrini. Dalla fine degli anni '50 sino alla metà degli anni '70 venivano sperimentalmente individuate una serie di attività neuromodulatorie del sistema endocrino, come il controllo esercitato dalle gonadi sullo sviluppo del sistema nervoso, sulla sua caratterizzazione sessuale e sui comportamenti riproduttivi da esso mediati; il ruolo dell'insulina nel comportamento alimentare; quello dell'angiotensina nella regolazione della sete, l'influenza dei corticosteroidi sulle funzioni delle strutture cerebrali responsabili dei comportamenti emotivi, dell'apprendimento e l'azione degli ormoni tiroidei sulla maturazione del sistema nervoso centrale.

La precisazione delle profonde correlazioni neuroendocrine favorì l'emergere di nuove ipotesi metodologiche nel campo della fisiologia e della patologia del comportamento e dei processi mentali, come quella avanzata negli anni Sessanta da Edward J. Sachar (1933-1984), uno dei fondatori della psiconeuroendocrinologia. Secondo Sachar lo studio della correlazione tra fenomeni ormonali, nervosi e comportamentali, ovvero degli effetti della manipolazione dei processi endocrini sulle funzioni nervose rappresentava il metodo più efficace, anche in quanto non invasivo e non traumatico, per l'indagine sulla chimica del sistema nervoso e delle sue funzioni: una privilegiata "finestra sul cervello". L'approccio metodologico proposto da Sachar si è rivelato estremamente potente e fecondo quando verso la metà degli anni Settanta la ricerca neuroendocrina ha potuto iniziare ad usare agenti farmacologici di cui era nota l'azione su specifici neurotrasmettitori o recettori, per indurre precise risposte ormonali.

Verso la metà degli anni '60, l'introduzione delle tecniche autoradiografiche per lo studio dei siti di legame nel cervello delle sostanze ad azione farmacologica apriva uno dei capitoli di indagine più complessi delle neuroscienze: la ricerca sulle azioni centrali e sulla regolazione complessiva dell'organismo degli agenti neuroendocrini e della neurosecrezione. La prima clamorosa scoperta in questo settore era quella delle endorfine, isolate e descritte nella loro struttura chimica da John Hughes e Hans W.

²⁷ J.D. Green, G.W. Harris, «The neurovascular link between the neurohypophysis and adenohypophysis», *J. Endocrinol.*, 1947, 5, pp. 136-46.

Koesterlitz dell'università di Aberdeen nel 1975,²⁸ sulla base della dimostrazione dell'esistenza di recettori cerebrali per sostanze morfino-simili fatta da Candace B. Pert e Solomon H. Snyder due anni prima.²⁹

Le successive ricerche hanno messo in evidenza la doppia rappresentazione dei neuropeptidi (come fattori di regolazione psicologica e comportamentale e come agenti dell'omeostasi fisiologica) nella realizzazione dell'adattamento individuale, nella coordinazione dei diversi livelli omeostatici in gioco nei vari programmi adattativi. Verso la metà degli anni '70, il dettaglio delle corrispondenze funzionali a livello centrale e periferico dei neuropeptidi iniziava a delineare un approccio nuovo alla comprensione dei processi di regolazione fisiologica. Questi venivano finalmente a situarsi all'interno del più vasto contesto dei processi adattativi individuali, in una prospettiva nuova, più genuinamente biologica, in cui diventava peraltro possibile tematizzare ed indagare sperimentalmente la continuità ovvero l'identità tra regolazione fisiologica e processi comportamentali normali e patologici.

²⁸ J. Hughes e H.W. Koesterlitz et al., «Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity», *Nature*, 1975, 258, pp. 577-79.

²⁹ C. Pert, S.H. Snyder, «Opiate receptor: demonstration in nervous tissue», *Science*, 1973, 179, pp. 1011-14.