

Instituto Español de Fisiología y Bioquímica.
Sección de Bioquímica. — Madrid.
Prof. A. Santos Ruiz

Producción experimental de proteidasas específicas

V. — Influencia de la hiperfunción suprarrenal

por A. Santos-Ruiz, O. Vidal Rios y J. Lucas Gallego

(Recibido para publicar el día 7 de enero de 1950).

Introducción

En un trabajo anterior (1) demostrábamos que los gatos íntegros no eliminan, por la orina, proteidasas defensivas contra substratos de cápsula suprarrenal de la misma especie ni contra ninguno de los demás substratos ensayados. Asimismo comprobamos que los gatos mono o bi-suprarrenoprivos no producen fermentos defensivos contra sustratos suprarrenales, pero sí daban lugar a ellos, de tipo inespecífico en los animales operados con persistencia de restos de tejido glandular.

El objeto de esta nota es estudiar la influencia de las hormonas corticales, sintéticas y naturales, y de la medular sobre la eliminación urinaria de proteidasas defensivas específicas.

Para ello se puso a gatos en condiciones de hiperfunción adrenal por la administración de dosis extrafisiológicas de hormona cortical y de adrenalina (*). Para aquilatar y diferenciar cumplidamente el papel que en este fenómeno cabe a las hormonas y a los proteídos celulares de las glándulas, se llevaron a cabo experiencias consistentes en la administración parenteral de proteídos glandulares. En todos los casos se estudió la formación de fermentos defensivos.

(*) Agradecemos a Ciba, Ibyx e Industrial Cantabria, S. A. el habernos facilitado las hormonas naturales y sintéticas utilizadas en este trabajo.

Parte experimental

En lo que a la técnica respecta, véanse trabajos anteriores. Las experiencias efectuadas se describen a continuación:

a) *Gatos sanos inyectados con hormona cortical.*

En esta experiencia se dispuso un lote de gatos en los que se provocó el aumento de hormona cortical circulante por la inyección de corticosteroides.

Nueve animales, cuyo normalidad se había comprobado previamente (cuadro I), recibieron cada uno el primer día, por vía intramuscular, 5 mgrs. de acetato de desoxicorticosterona en aceite de sésamo, seguidos de 2'5 mgrs. en cada

CUADRO I

Gatos sanos. Prueba en blanco.

TUBOS	GATOS NÚMEROS			
	1, 3, 4, 6, 8	2, 7	5	9
Control	+	(+)	-	++
Substrato suprarrenal de gato	+	(+)	-	++
Substrato placenta.	+	(+)	-	++

Negativas

uno de los dos días siguientes. Se utilizó esta dosis elevada teniendo en cuenta los trabajos de VERZAR (2), según los cuales la cantidad de hormona cortical suficiente para mantener con vida a un gato-bi-suprarrenoprivo, es la de un mgr. diario por kilo de peso. Las muestras de orina recogidas en la noche

CUADRO II

Gatos sanos inyectados con acetato de desoxicorticosterona.

TUBOS	GATOS NÚMEROS				
	1, 3, 5	2	4, 6	7	8, 6
Control	+	+	(+)	-	++
Substrato suprarrenal de gato.	+	(+)	(+)	-	++
Substrato suprarrenal de perro	+	+	(+)	-	++
Substrato testículo de perro	+	+	(+)	-	++

Negativas

del tercero al cuarto día de experiencia no contenían fermentos defensivos, según puede verse en el cuadro II.

Ante la posibilidad de que los hechos hallados con la hormona cortical sintética pudieran ser diferentes de los producidos con la natural, se hicieron análogos ensayos con un extracto de corteza suprarrenal de bóvido, obtenido según la técnica de SWINGLE y PFIFFNER (3) y de tal riqueza en principios activos, que 5 a 10 c. c. de aquél, inyectados diariamente, bastan para sostener la vida de un gato suprarrenoprivo. En un lote de ocho gatos se había comprobado con anterioridad la ausencia de fermentos defensivos contra suprarrenal de vaca (cuadro III). Se administró a cada animal dosis de 5 c.c. el primer día, 2'5 c.c.

CUADRO III

Gatos sanos. Prueba en blanco.

TUBOS	GATOS NÚMEROS						
	10, 13, 14	11, 12	15	16, 17	18, 22, 25	19, 21, 24	20, 23
Control	+	+	-	(+)	-	+	(+)
Substrato suprarrenal de vaca	+	(+)	-	(+)			
Substrato testículo de perro	+	+	-	(+)	-	+	(+)
Substrato suprarrenal de gato					-	+	(+)

Negativas

el segundo y la misma cantidad en los dos siguientes. Como enseña el cuadro IV, ninguno de los gatos eliminó fermentos defensivos, puesto que en todos ellos la reacción resultó ser negativa.

CUADRO IV

Gatos sanos. Inyección con extracto cortical.

TUBOS	GATOS NÚMEROS				
	10, 11	12, 17	13	14, 16	15
Control	(+)	+	++	+	--
Substrato suprarrenal de vaca	(+)	(+)	+	+	-
Substrato testículo de perro	(+)	+	++	+	--

Negativas

b) Gatos sanos, inyectados con adrenalina.

Visto el efecto negativo de un exceso de hormona cortical, sobre la formación de fermentos defensivos para los sustratos

suprarrenales, parecía necesario hacer idénticas averiguaciones con relación a la hormona de la porción medular. Para ello, un grupo de ocho animales nuevos, después de la acostumbrada prueba en blanco (cuadro III), fué sometido a la inyección durante tres días consecutivos, a la dosis individual de 5 c.c. el primero y 2'5 c.c. cada uno de los dos siguientes, de un producto que contenía un mgr. de adrenalina por c.c., en vehículo apropiado para una reabsorción lenta de 16 a 24 horas. Demostrado por TRENDELENBURG (4) que en el gato se producen diariamente 5 mgrs. de adrenalina por kilo de peso, la dosis utilizada representaba una franca hiperfunción. Los resultados, también negativos, se indican en el cuadro V.

CUADRO V

Gatos sanos. Inyección de adrenalina.

TUBOS	GATOS NÚMEROS			
	18, 22, 24	19, 23, 25	20	21
Control.	+	-	++	(+)
Substrato suprarrenal de gato.	+	-	++	(+)
Substrato testículo de perro	+	-	++	(+)

Negativas

c) *Gatos sanos, inyectados con proteidos de cápsula suprarrenal.*

Señalado ya por otros investigadores que las enfermedades de las glándulas de secreción interna dan lugar a la aparición de fermentos defensivos que desintegran sustratos preparados con tejidos de las mismas, y comprobado en las anteriores experiencias que no son el exceso o el defecto de las hormonas respectivas la causa de su producción, era lógico suponer que serían los propios proteidos del órgano alterado los que funcionarían como sustancia extraña. Para comprobar esta hipótesis, se han realizado las experiencias que se describen a continuación.

A un lote de ocho gatos nuevos se administró por vía parenteral sustrato de suprarrenal de gato, suspendido en glicerina neutra para lograr así una suspensión homogénea (*). A un gato se le inyectó glicerina pura, como control, y a los demás

(*) Para obtener ésta, 50 mgrs. de sustrato suprarrenal de gato se suspendieron en 10 c. c. de glicerina, con lo cual cada c. c. a inyectar contenía 5 miligramos.

animales dosis respectivamente de 2'5, 2'5, 5'0, 5'0, 7'5, 7'5 y 10 miligramos, con el propósito de averiguar al propio tiempo la influencia de las dosis sobre la producción de fermentos defensivos específicos. Se recogió orina entre las 24 y 48 horas después de la inyección y entre las 48 y 72 horas. En la primera toma (cuadro VI) la reacción de ABDERHALDEN fué positiva para todos los gatos, pero con carácter inespecífico y sin que en ello influyese la dosis de proteidos inyectados. En la segunda, rea-

CUADRO VI

Gatos sanos. Inyección de sustrato suprarrenal de gato, en las dosis respectivas que se indican.

TUBOS	GATOS NÚMEROS							
	26	27	28	29	30	31	32	33
Dosis. mgrs.	0	2'5	2'5	5'0	5'0	7'5	7'5	10'0
Control	+	+	+	+	(+)	-	+	+
Sustrato suprarrenal de gato	+	++	++	++	+	(+)	++	++
Sustrato suprarrenal de vaca	+	++	++	++	+	(+)	++	++
Sustrato testículo de perro	+	++	++	++	+	(+)	++	++
		Negativa.	Positiva inespecífica.	Positiva.	Positivos inespecíficos.			

lizada a las 24 horas, se observaron resultados análogos (cuadro VII). Como era de esperar, la administración de glicerina pura no produjo proteidasas.

Considerando que la especificidad de la reacción podría acentuarse al utilizar proteidos suprarrenales de especie animal diferente, se dispuso una experiencia a base de inyectar a los animales sustratos de cápsula suprarrenal de vaca y de perro (*).

De un lote de ocho gatos se administró suprarrenal de vaca a cuatro, y suprarrenal de perro a los cuatro restantes, a la dosis de 2'5 y 5 miligramos respectivamente. El resultado de la investigación consignado en el cuadro VIII demuestra que la reacción es para todos ellos, positiva inespecífica.

d) *Gatos sanos inyectados con otros proteidos.*

La presencia de fermentos defensivos inespecíficos en las muestras de orina de gatos inyectados con sustratos suprarre-

(*) Con este fin se preparó una suspensión de cada uno de estos productos, pesando 25 mgrs. de polvo seco y agitándolos en 5 c. c. de glicerina hasta obtener un reparto homogéneo. Cada c. c. a inyectar contenía, por lo tanto, 5 mgrs. de sustrato respectivo.

nales, motivó el que se intentase aclarar esta divergencia de comportamiento, experimentando con un proteido diferente. Se utilizó para ello el sustrato de testículo de perro, que ya había sido empleado como control en varias reacciones.

CUADRO VII

La misma experiencia del cuadro VI, veinticuatro horas mas tarde.

TUBOS	GATOS NÚMEROS							
	26	27	28	29	30	31	32	33
Dosis mgrs.	0	2'5	2'5	5'0	5'0	7'5	7'5	10'0
Control	+	-	-	+	+	-	(+)	(+)
Substrato suprarrenal gato	+	+	(+)	++	+++	+	+	-
Substrato suprarrenal vaca	+	+	(+)	++	+	(+)	(+)	+
Substrato testículo perro	+	+	(+)	++	+	(+)	(+)	+

Negativa.
Positivas inespecíficas.

Seis gatos, de normalidad comprobada en lo que respecta a la eliminación de fermentos defensivos (cuadro IX), fueron inyectados con 2'5 miligramos de sustrato de testículo de perro

CUADRO VIII

Gatos sanos, inyectados con suprarrenal de vaca y de perro.

TUBOS	GATOS NÚMEROS							
	Inyectados suprl. vaca.				Inyectados suprn. perro.			
	34	35	36	37	38	39	40	41
Dosis mgrs.	2'5	2'5	5'0	5'0	2'5	2'5	5'0	5'0
Control	-	-	(+)	-	-	-	-	-
Substrato sprnl. gato	+	(+)	+	(+)	(+)	+	(+)	(+)
Substrato sprnl. vaca	+	(+)	(+)	+	-	+	(+)	+
Substrato sprnl. perro	+	(+)	+	-	+	+	(+)	+
Substrato testículo perro	+	(+)	+	+	+	+	+	+

Positivas mespecíficas.

suspendido en glicerina y estudiada la excreción urinaria de proteidasas en las 36 a 48 horas siguientes. Como indica el cuadro X, la reacción se mostró positiva específica en uno sólo de los gatos e inespecífica en los restantes.

CUADRO IX

Gatos sanos, intactos. Prueba en blanco

TUBOS	GATOS NÚMEROS	
	42, 43, 44, 46	45, 47
Control	+	—
Substrato testículo de perro	+	—
Substrato placenta	+	—

negativas

e) Gatos sanos, inyectados simultáneamente con proteidos y hormona cortical.

La influencia de la función corticosuprarrenal en la especificidad de la reacción de ABDERHALDEN, se ensayó sometiendo a los gatos del apartado anterior d), a la inyección simultánea de

CUADRO X

Gatos sanos. Inyección de sustrato de testículo de perro

TUBOS	GATOS NÚMEROS		
	42	43, 44, 46	45, 47
Control	+	+	—
Substrato testículo de perro	++	++	+
Substrato placenta	+	++	+

Positiva específica Positivas inespecíficas

testículos de perro y acetato de desoxicorticosterona. Transcurridos quince días de la prueba anterior y extinguida la eliminación de fermentos defensivos, se administró, a cada animal del lote, 2'5 mgrs. de sustrato de testículo de perro, y simultá-

CUADRO XI

Gatos inyectados con sustrato de testículo de perro y acetato de desoxicorticosterona

TUBOS	GATOS NÚMEROS		
	42, 43	44, 45, 46	47
Control	+	+	—
Substrato testículo de perro	++	++	+
Substrato placenta	+	++	—

positivas inespecíficas positiva específica

neamente (pero en región muscular distinta) 5 mgrs. de acetato de desoxicorticosterona. Al día siguiente se les administró parenteralmente 2'5 mgrs. de este mismo producto. Según puede

CUADRO XII

Gatos intactos

TUBOS	GATOS NÚMEROS			
	48, 52, 55	49, 50, 53	51	54
Control	+	++	-	(+)
Substrato fibromioma de útero	+	++	-	(+)
Substrato placenta	+	++	-	(+)
		negativas		negativa

verse en el cuadro XI, la especificidad enzimática ascendió a la mitad de los casos.

f) *Gatos monosuprarrenectomizados, inyectados simultáneamente con hormona cortical y leche hervida.*

A un lote de gatos que habían dado reacción negativa y fueron monodescapsulados cuarenta días antes de la experiencia (cuadro XII), le fueron inyectados simultáneamente (cada uno) con dos c.c. de leche hervida de vaca, 5 mgrs. de acetato de desoxi-

CUADRO XIII

Gatos mono-suprarrenectomizados. Inyección de acetato de desoxicorticosterona y leche hervida.

TUBOS	GATOS NÚMEROS				
	48, 49, 51, 53	50	52	54	55
Control	+	-	++	(+)	No había orinado
Substrato testículo de perro	+	+	++	(+)	
Substrato placenta	+	+	++	(+)	
	negativas		positiva inespecífica	negativas	

corticosterona. En los dos días sucesivos se les administró nuevamente 2'5 mgrs. de hormona solamente. Entre las 36 y las 48 horas de la administración de leche se recogió orina, la cual frente a sustratos inespecíficos dió los resultados que se expresan en el cuadro XIII. De siete gatos (en uno de la serie no se recogió orina), solamente uno da reacción positiva inespecífica, mientras que los restantes no muestran desintegración de sustratos inadecuados.

Discusión

Las experiencias realizadas con gatos en los que se ha provocado hiperfunción por la administración de acetato de desoxicorticosterona o adrenalina demuestran que estas substancias no dan lugar a la aparición en la orina de fermentos defensivos. Por tanto, los resultados de estas experiencias no coinciden con las expuestas por otros autores sobre eliminación de fermentos defensivos en las hiperfunciones de las glándulas endocrinas, al menos en las suprarrenales.

En los ensayos hechos con la inyección de proteidos de cápsula suprarrenal de gato y de vaca y de perro se obtuvieron resultados positivos inespecíficos, o sea que existe eliminación de enzimas defensivos inespecíficos. Esto demuestra que son los proteidos del órgano los que funcionan como substancias extrañas, provocando la formación de proteidasas defensivas, si bien de carácter inespecífico. Iguales resultados se obtuvieron en las pruebas realizadas con gatos inyectados con proteidos de testículo de perro; en uno de los gatos la reacción fué positiva específica.

En los ensayos, llevados a cabo con la administración simultánea de proteidos de testículo de perro y acetato de desoxicorticosterona, la pruebas dieron resultados positivos, el 50 % específico y el resto inespecífico. De donde se deduce la influencia positiva que la hormona cortical puede tener en la especificidad la reacción de Abderhalden.

Las pruebas verificadas en gatos monosuprarrenectomizados inyectados al mismo tiempo con leche hervida y acetato de desoxicorticosterona dan sólo una reacción positiva inespecífica y las demás negativas. Si comparamos estos resultados con los obtenidos en la experiencia con gatos monosuprarrenectomizados inyectados con leche sin acetato de desoxicorticosterona, en la que los resultados fueron positivos inespecíficos, deducimos que la hormona cortical actúa haciendo negativa la reacción. Esto era de esperar, ya que los gatos en hipofunción cortical tratados con acetato de desoxicorticosterona se comportan como normales, y éstos ya hemos visto que dan reacción negativa.

Resumen

La inyección de hormonas suprarrenales no da lugar a la producción de fermentos defensivos.

La eliminación urinaria de fermentos defensivos se debe a las alteraciones anatomopatológicas de las cápsulas suprarrenales, puesto que la administración de sus proteidos los originan.

No es posible diferenciar la hipofunción de la hiperfunción suprarrenal, en el gato, mediante la técnica de los fermentos defensivos.

Los gatos monosuprarrenoprivos inyectados con hormona cortical se comportan en la reacción como normales.

Summary

The injection of suprarenal hormones does not produce any defensive ferments. The urinary elimination of defensive ferments is due to anatomic-pathological alterations of the suprarenal capsules, seeing that the former are caused by the administration of their proteides. It is not possible to differentiate hypofunction from suprarena' hyperfunction in the cat, by means of the technique of defensive ferments. Monoadrenalectomized cats injected with cortical hormones behave in reaction like normal animals.

Bibliografía

- (1) Esta Revista. 1949.
- (2) VERZAR. Schweiz. med. Wschr. 12, ALB, 1940.
- (3) Citado por A. SANTOS RUIZ. Hormonas, pág. 154. Madrid, 1940.
- (4) Citado por SHARPEY SCHAFFER. Las glándulas de secreción interna. Barcelona, 1928.