

Instituto Español de Fisiología y Bioquímica.
Sección de Bioquímica — Madrid.

Producción experimental de proteidasas específicas

IV. — Influencia de la hipofunción suprarrenal

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

(Recibido para publicar el día 15 de diciembre de 1949)

En tres trabajos anteriores estudiábamos con ESCRIBANO ARNAL (1, 2 y 3) la producción experimental de proteidasas defensivas en relación con el "*Corynebacterium diphtheriae*" y su toxina. En este trabajo, y en otro posterior, intentamos aclarar la relación entre dichos fermentos y la glándula suprarrenal y sus secreciones hormonales.

Las endocrinopatías se traducen en la presencia de sustancias extrañas en el plasma sanguíneo, y en consecuencia, es de esperar la producción de fermentos defensivos específicos contra ellas.

ABDERHALDEN (4) afirma concretamente, que una herida mecánica del tiroides o un tumor destructivo del mismo órgano, son causa de que se observen en la orina fermentos defensivos demoledores de un substrato de tejido tiroideo. Así mismo reconoce la existencia de una reacción de ABDERHALDEN positiva contra el mismo substrato en los trastornos funcionales, es decir, en los hiper o hipotiroidismos; si en el primer caso es fácil admitir la presencia en la sangre de un exceso de prótidos procedentes del cuerpo de la glándula, que se comportaría como sustancias extrañas, en el segundo en cambio, debe existir solamente una disminución de la cantidad de hormona circulante. Por lo que se refiere al aumento de la tasa de ésta no debe existir dificultad para aceptar la hipótesis de que el organismo reaccione oponiéndole fermentos defensivos, y de acuerdo con ello está la afirmación del citado autor de que la administración de hormonas con fines terapéuticos despliegue actividad enzimático-defensiva. En cuanto al déficit hormonal, la explicación de la positividad de la reacción de ABDERHALDEN muéstrase a nuestro juicio, menos clara.

En el terreno de la clínica, los resultados obtenidos y expuestos por ABDERHALDEN y su escuela, nos presentan la reacción de los fermentos defensivos como una propiedad biológica de la más alta sensibilidad y exactitud diagnóstica para las enfermedades endocrinas. Sabido es que éstas consisten, en la mayor parte de las veces, en alteraciones pluriglandulares, resultando difícil por los demás medios de exploración averiguar cuáles son los órganos afectados. Frecuentemente se presentan síndromes que pueden interpretarse como modificaciones de la actividad de dos o más glándulas distintas. Según ABDERHALDEN su reacción aplicada en estos casos puede señalar con exactitud la localización de la enfermedad.

ABDERHALDEN y su escuela han investigado 35 casos de "distrofia adiposo-genital", afección que se considera debida a una hipofunción de la hipófisis. Sin embargo, en 3 casos no pudieron ser demostrados fermentos defensivos contra este órgano, mientras que, por el contrario, la reacción fué positiva para substratos de tiroides y timo. En los restantes casos, además de la hipófisis, era desintegrado el tiroides, el testículo, el timo y la cápsula suprarrenal.

De 51 enfermos de obesidad eliminaron fermentos defensivos, contra hipófisis, exclusivamente 6 de ellos; los 45 restantes lo hicieron contra hipófisis, y al mismo tiempo contra tiroides, glándulas sexuales, y suprarrenales y timo.

De 7 enfermos de magrosis (o adelgazamiento) todos ellos desintegraban hipófisis y además diversas combinaciones de tiroides, ovario, suprarrenales, etc., etc.

En 5 enfermos de "acromegalia" la reacción fué positiva para la hipófisis, y además de esto, en 4 para las gonadas y en uno para las suprarrenales.

En el "enanismo hipofisario" fueron demostrados fermentos defensivos contra substratos muy diversos preparados con unas u otras glándulas endocrinas.

En un caso de "mal de Basedow" unas veces sólo existía demolición de tiroides, mientras que en otras se presentaba también para la hipófisis o para ésta y el ovario. En dos casos de "cretinismo" y en otros varios de distintas hipofunciones tiroideas se demostraron fermentos defensivos anti-tiroideos.

Finalmente, resultan de gran interés las observaciones hechas en los casos en que se verificaron transplantaciones o injertos de órganos endocrinos con fines terapéuticos. Las variaciones obtenidas en la reacción de ABDERHALDEN antes y después de la intervención, estuvieron siempre en perfecta armonía con la mejoría clínica de los trastornos.

Hay que hacer constar sin embargo, que el propio ABDERHALDEN insiste repetidamente en que hasta ahora el número de casos estudiados es muy limitado, y es necesario, por lo tanto, multiplicar las observaciones en Clínicas y Hospitales.

El primer escollo con que se tropieza para interpretar los anteriores resultados es con el hecho de que únicamente es permitido hablar de fermentos defensivos específicos, propiamente dichos, para las sustancias de naturaleza proteica, y este no es siempre el caso

de los productos hormonales. Es verdad que el propio ABDERHALDEN⁶ refiere que ha podido demostrar en el suero sanguíneo la operación de fermentos desdobladores de glúcidos y lípidos después de la administración parenteral de estas sustancias; pero la simplicidad de la molécula de estos en comparación con la de un proteido excluye la posibilidad de una utilización diagnóstica. El vocablo "fermento defensivo" hizose por esta causa, sinónimo de "proteidasa defensiva" y en este sentido lo hemos utilizado antes, y ahora en el presente trabajo.

Para explicar la aparición de proteidasas defensivas en los trastornos funcionales de ciertos órganos endocrinos y en los cuales se ha admitido como única alteración de la normalidad un exceso o un defecto de hormonas circulantes, que carezcan precisamente, de naturaleza proteica, hemos de servirnos de la ingeniosa hipótesis formulada por ABDERHALDEN. Según éste, las hormonas propiamente tales, no pasan aisladas y libres a la sangre, sino unidas a determinadas proteidos específicas de fina estructura. En el caso de una hipofunción, el déficit de hormona se traduciría en la presencia en la sangre de una cierta cantidad de aquel proteido en estado libre, que provocaría la formación de fermentos específicos. Al remediarse la hipofunción mediante la opoterapia correspondiente, aquellos desaparecerían. En la hiperfunción, por el contrario, aparecería en circulación un exceso de prótido hormonal. Por otra parte, puede admitirse también y en condiciones patológicas, un desdoblamiento en la sangre de la unión proteido-hormona o una alteración de la estructura proteica. Consecuencia de esta teoría, es la imposibilidad de diagnosticar mediante la reacción de ABDERHALDEN, el sentido de la alteración del órgano, hacia la hipo o la hiperfunción, puesto que la sustancia extraña que desencadena la reacción defensiva es el citado proteido hormonal, idéntico en uno y otro caso (6 y 7).

El averiguar las condiciones en que se produce la aparición de fermentos defensivos en las alteraciones endocrinas, y tomando como base las ideas y los conocimientos hasta aquí expuestos, ha sido nuestro propósito. La necesidad material de delimitar el volumen de nuestras experiencias hizo que concretásemos estas en una sola glándula: la cápsula suprarrenal.

En los experimentos que reseñamos a continuación se ha provocado, por una parte, la hipofunción adrenal pura mediante la eliminación operatoria de una o las dos cápsulas en el gato. En otros ensayos ha sido combinado la hipofunción con la reabsorción de las cápsulas destruídas.

Parte experimental

El procedimiento de preparación de la orina, la obtención de los diferentes sustratos y en general la técnica de la reac-

ción ha sido la ya descrita en publicaciones anteriores. Las experiencias realizadas fueron las siguientes:

a) *Gatos sanos intactos antes de ser inyectados.*

Todos los gatos utilizados para la investigación de enzimas defensivas han sido sometidos previamente a una prueba en blanco, para la comprobación de que no las eliminaban de modo espontáneo, lo cual pudiera suceder en caso de hallarse afectados de algún proceso patológico no advertido. Según puede observarse en el cuadro I, los animales ensayados cumplían esta

CUADRO I

Gatos sanos intactos. Prueba en blanco

TUBOS	GATOS NÚMEROS									
	1, 2, 3, 5, 7, 8, 12, 13, 16	4, 6, 9, 10, 11, 14, 15	17, 19, 21	18, 20	22	23, 27, 30	24, 25, 28	26	29	
Control	+	-	-	+	+	+	++	-	(+)	
Substrato suprarenal de gato . . .	+	-	-	+	+	+	++	-	(+)	
Substrato de placenta	+	-	-	+	++	+	++	-	(+)	
Substrato tumor mixto de parótida .			-	+	+++					
Substrato fibroma de útero						+	++	-	(+)	
	Negativas				Positiva inespecífica	Negativas				

condición indispensable excepto el animal n.º 22 que fué desechado.

b) *Gatos sanos, intactos, inyectados con leche.*

Se inyectó subcutáneamente a cada gato en la cara externa del muslo, 2 c.c. de leche hervida de vaca, en un lote de 5 animales. Dado el contenido proteínico de la leche y su dilución, cada animal recibió aproximadamente 0,01 grs. de proteídos, cantidad fijada como óptima por ABDERHALDEN. La orina emitida entre las 24 y 48 horas después de la inyección arrojó para todos los animales el resultado negativo que se aprecia en el cuadro II. En una nueva experiencia con otro grupo de gatos, fué confirmada la anterior, según atestigua el cuadro VI. Se demuestra por tanto, que en el gato íntegro, la administración parenteral de proteídos lácteos no produce enzimas defensivas capaces de desintegrar sustratos inadecuados.

CUADRO II

Gatos sanos intactos. Inyección de leche hervida

TUBOS	GATOS NÚMEROS				
	17, 19, 21	18, 20	23, 26 29	24, 27, 30	25, 28
Control.	—	+	+	—	++
Substrato tumor mixto de parótia.	—	+			
Substrato de placenta.	—	+	+	—	++
Substrato de fibroma de útero			+	—	++

Negativas

c) Gatos mono-suprarrenectomizados.

Admitida provisionalmente en la parte teórica, la posibilidad de que la hiperfunción glandular diese lugar a la formación de fermentos defensivos para un sustrato de la glándula correspondiente, se trató de comprobar este hecho en gatos colocados en déficit funcional suprarrenal por extirpación quirúrgica de una de sus cápsulas.

Un lote de ocho animales fué intervenido y se llegó a la cápsula suprarrenal izquierda que se separó con el cuidado preciso para no producir hemorragia ni fragmentación del órgano, que pudiera dar lugar a la inclusión de los tejidos cicatriales de sustancia cortical.

Se obtuvo orina entre las 24 y 48 horas de la operación y estudiada su actividad fermentativa ante sustrato suprarrenal de gato y placenta humana como control, fuero obtenidos los resultados negativos que recogen el cuadro III. La excepción

CUADRO III

Gatos mono-suprarreneclomizados

TUBOS	GATOS NÚMEROS		
	1, 2, 5, 6, 7, 8	3	4
Control	+	+	—
Substrato suprarrenal de gato.	+	++	—
Substrato de placenta,	+	++	—
	Negativas	Positiva inespecífica	Negativa

representada por uno de los gatos n.º 3, hemos de interpretarla como debida a la reabsorción de tejidos traumatizados en la intervención.

Repetida la experiencia en un nuevo lote de gatos, éstos se comportaron de idéntica manera, esto es, no eliminado fermentos defensivos, según señala el cuadro IV.

d) Gatos bi-suprarrenectomizados.

La mitad de los animales mono-suprarrenoprivos del grupo anterior, fué sometida a la extirpación de la cápsula suprarrenal del otro lado, cincuenta días más tarde de la primera intervención. Durante este tiempo se había realizado la adapta-

CUADRO IV

Gatos mono-suprarrenectomizados. Experiencia tres días después de la intervención

TUBOS	GATOS NÚMEROS		
	23, 24, 30	25, 26, 29	27, 28
Control	++	+	—
Substrato suprarrenal de gato	++	+	—
Substrato placenta	++	+	—

Negativas

ción a las nuevas circunstancias, en parte mediante la hipertrofia compensadora de la glándula conservada, cuyo aumento de volumen era bien apreciable en el momento de ser eliminada.

En el transcurso de esta experiencia pudo comprobarse que los gatos bisuprarrenoprivos abandonados a sí mismos morían después de cuatro a seis días de adinamia; de estos síntomas se reponían al ser tratados con hormona cortical sintética; sin embargo, al cesar la administración de ésta, la muerte se producía a los dos o tres días. Por otra parte, en el transcurso de la segunda intervención sobre la suprarrenal, se observó que en lugar de despertar de la anestesia a los pocos minutos de colocados en la jaula, como la primera vez, los gatos tardaban más de media hora en recuperarse.

La orina de estos animales carentes de ambas cápsulas no contenían tampoco fermentos defensivos, como se hace constar en la primera parte del cuadro V.

e) Gatos suprarrenectomizados, inyectados con leche.

Un lote de gatos, que no eliminaban fermentos defensivos de carácter inespecífico cuando íntegros, fueron inyectados con

CUADRO V

Gatos bi-suprarrenectomizados

TUBOS	GATOS NÚMEROS				
	(Segunda cápsula retirada)			(Segunda cápsula triturada)	
	23, 26	24	25	27, 29, 30	28
Control	+	—	++	+	—
Substrato suprarrenal de gato	+	—	++	++	+
Substrato placenta	+	—	++	++	+
	Negativas			Positivas inespecíficas	

leche, ni los eliminaban tampoco de ningún tipo después de haber sufrido la suprarrenectomía unilateral fueron sometidos a una nueva experiencia. Quince días después de la intervención se les inyectó subcutáneamente en la cara externa del muslo 2 c.c. de leche hervida de vaca y se estudió la actividad enzimática de la orina emitida entre las 24 y las 48 horas siguientes. Según expresa el cuadro VI todos los animales, excepto uno, dieron reacción positiva inespecífica. La repetición de esta experiencia cuando los animales llevaban treinta días privados de una cápsula suprarrenal, arrojó resultados prácticamente iguales, como informa el cuadro VII.

Por lo tanto, el déficit de función suprarrenal provoca la aparición de fermentos defensivos inespecíficos después de la inyección de leche hervida.

f) *Gatos suprarrenotomizados (trituration "in situ" del tejido capsular).*

El resultado negativo de la reacción de ABDERHALDEN en la hipofunción suprarrenal experimental y los datos existentes en la literatura según las cuales la lesión del órgano endocrino da lugar a la eliminación de fermentos defensivos específicos

CUADRO VI

Gatos mono-suprarrenectomizados. Inyección de leche.

TUBOS	GATOS NÚMEROS						
	23	24	25	26	27, 30	28	29
Control	+	—	—	—	+	+	+
Substrato fibroma de útero	(+)	—	+	+	+	++	+
Substrato de placenta	++	(+)	++	+	++	++	+
	Positivas inespecíficas						Neg.

por la orina, fué motivo de que se dispusiese una experiencia consistente en la destrucción de las cápsulas suprarrenales "in situ", dejando en el interior del animal los restos de tejido. Para ello, se llegó a la glándula suprarrenal del lado izquierdo,

CUADRO VII

Gatos mono-suprarrenectomizados. Experiencia treinta días después de la suprarrenectomía. Inyección de leche hervida.

TUBOS	GATOS NÚMEROS					
	23, 24	25, 28	26	27	29	30
Control	+	—	+	(+)	—	—
Substrato fibroma de útero	++	+	+	+	—	—
Substrato placenta	++	+	+	++	+	—
	positivas ines- pecíficas		nega- tiva	positivas ines- pecíficas		nega- tiva

y con unas pinzas de diente de ratón fué aquélla cuidadosamente triturada, y sin retirar los restos, se cerró la cavidad suturando por planos. En toda la intervención se trabajó asépticamente.

Entre las 24 y 48 horas siguientes se obtuvieron muestras de orina, cuyos precipitados acetónicos, frente a sustratos de suprarrenal de gato y placenta humana, dieron los resultados que se expresan en el cuadro VIII. Sólo uno de ellos es nega-

CUADRO VIII

Gatos suprarrenotomizados. (Trituración "in situ" de una cápsula suprarrenal).

TUBOS	GATOS NÚMEROS						
	9	10, 15	11	12	13	14	16
Control	—	—	—	fallecido	+	—	+
Substrato de suprarrenal de gato	+	+	+		++	++	+
Substrato de placenta	++	+	—		++	+	+
	positivas nes- pecíficas		posi- tiva		positiva inespe- cífica	posi- tiva	nega- tiva

tivo, en dos es positivo y en los restantes positivo inespecífico. Uno de los gatos falleció por hemorragia interna consecutiva a la operación.

Una semana más tarde, muestras de orina de los mismos animales demostraron que persistía la eliminación de enzimas defensivos (cuadro IX). A los quince días, por el contrario,

CUADRO IX

Gatos suprarrenotomizados. Experiencia ocho días después de la suprarrenotomía.

TUBOS	GATOS NÚMEROS			
	9, 10, 11	13	14, 15	16
Control.	—	+	+	+
Substrato suprarrenal de gato	+	++	++	+
Substrato de placenta	+	+	++	+
	positivas inespecíficas	positiva	positivas inespecíficas	negativa

la positividad de la reacción de ABDERHALDEN había desaparecido, lo que interpretamos como prueba de la reabsorción total de los tejidos triturados (cuadro X).

CUADRO X

Gatos suprarrenotomizados. Experiencia quince días después de la suprarrenotomía.

TUBOS	GATOS NÚMEROS		
	9, 10, 14	11	13, 15, 16
Control	—	—	+
Substrato suprarrenal de gato	—	+	+
Substrato de placenta	—	+	+
	negativas	positiva inespecífica	negativas

La trituración "in situ" de la segunda cápsula suprarrenal, en animales a los que se había extirpado la primera cincuenta días antes, provocó también la aparición de fermentos inespecíficos en todos los animales (cuadro V, segunda parte).

g) Gatos suprarrenotomizados (trituración "in situ" de la glándula) inyectados con leche.

La experiencia fué realizada con el lote de gatos a los cuales se había triturado una cápsula suprarrenal veinte días an-

tes, y en los que había cesado la eliminación de proteidasas defensivas consecutivas a la intervención.

Se inyectó a cada uno 2 c. c. de leche de vaca, hervida y

CUADRO XI

Gatos suprarrenotomizados. (Trituración "in situ" de una glándula).
Inyección de leche hervida.

TUBOS	GATOS NÚMEROS		
	9	10, 15, 16	14
Control	—	+	—
Substrato tumor mixto de parótida	+	++	+
Substrato de placenta	+	++	(+)
		positivas inespecíficas	

diluida. Las muestras de orina fueron recogidas entre las 24 y 48 horas y dieran reacción de ABDERHALDEN positiva inespecífica, comportándose estos gatos, por tanto, de igual manera que los suprarrenectomizados (cuadro XI). El fenómeno tiene una duración aproximada de ocho días, como indica el cuadro XII en el que más de la mitad de los casos son negativos.

CUADRO XII

Gatos suprarrenotomizados. Experiencia ocho días después de inyectados con leche.

TUBOS	GATOS NÚMEROS				
	9	10	14	15	16
Control	+	—	—	+	+
Substrato tumor mixto de parótida	(+)	+	—	+	+
Substrato de placenta	+	++	—	+	++
	negativa	positiva inespecífica	negativas		positiva inespecífica

Discusión

El estudio de los resultados obtenidos en las experiencias anteriormente expuestas, nos permite deducir que los gatos sanos, no intervenidos, no eliminan espontáneamente fermentos defensivos, por lo menos para los sustratos utilizados en el presente trabajo, a saber: placenta, tumor mixto de parótida y

fibromionma de útero humanos; testículos de perro, suprarrenal de gato; suprarrenal de perro y suprarrenal de vaca.

La especificidad de los fermentos defensivos provocados en el animal normal por inyección de leche hervida desaparece si, previamente, se ha eliminado una de las cápsulas suprarrenales.

El estado de hipofunción adrenocortical provocada por la ausencia de una de las glándulas o la exclusión quirúrgica de ambas, no se traduce en el gato por la aparición de enzimas defensivas en la orina. La hipótesis citada en la parte teórica, según la cual en la circulación del animal existirían en este caso albúminas libres destinadas a su acoplamiento con la hormona cortical y que, por no hallar posibilidad de cumplir su destino actuarían como sustancias extrañas, no parece tener confirmación.

En la reabsorción de tejido glandular lesionado como consecuencia de la trituración "in situ" de las cápsulas suprarrenales, sin extracción de los restos del mismo, se produce una eliminación urinaria de fermentos defensivos, pero de carácter inespecífico, la cual persiste tanto tiempo como dura la reabsorción de aquéllos.

Conclusiones

1.^a Los gatos íntegros no eliminan, por la orina, proteidasas defensivas contra sustratos de suprarrenal de la misma especie, ni contra ninguna de los demás sustratos ensayados, aun cuando se les inyecte proteídos lácteos.

2.^a Los gatos mono o bi-suprarrenectomizados no producen proteidasas defensivas contra sustratos suprarrenales.

3.^a Los gatos mono o bi-suprarrenectomizados originan fermentos defensivos cuando se les inyecta leche, si bien de carácter inespecífico.

4.^a Los gatos suprarrenotomizados (con persistencia de restos de tejido glandular) dan lugar a enzimas defensivas inespecíficas.

Summary

Integral cats do not eliminate through urine any defensive proteidases against suprarenal substracts of the same species, not against any other substracts essayed, even after being injected with lactic proteids.

Mono or bi-suprarrenectomized cats do not produce any defensive proteidases against suprarenal substracts.

Mono or bi-suprarenectomized cats create defensive ferments on being injected with milk, although they are of an inespecific nature.

Suprarenectomized cats (with a persistence of glandular tissue remainders) produce inespecific defensive enzymes.

Bibliografía

- (1) A. SANTOS RUIZ, J. LUCAS GALLEGO y M. J. ESCRIBANO ARNAL. — R. esp. Fisiol., 3, 109, 1947.
- (2) J. LUCAS GALLEGO, M. J. ESCRIBANO ARNAL y A. SANTOS RUIZ. — R. esp. Fisiol., 3, 257, 1947.
- (3) M. J. ESCRIBANO ARNAL, A. SANTOS RUIZ y J. LUCAS GALLEGO. — R. esp. Fisiol., 3, 317, 1947.
- (4) E. ABDERHALDEN. — Fermentforschung, 16, 269, 1940.
- (5) R. ABDERHALDEN. — Z. f. d. gesamte experim. medicin., 100, 360, 1937.
- (6) E. ABDERHALDEN. — Fermentos defensivos del organismo animal. Barcelona, 1914.
- (7) ITOH y BANTO. — Fukuoka Acta. Med., 34, 40, 1941.
- (8) ITOH. — J. of Biochem. (Japan), 31, 331, 1940.