

4 quifs. s. d. l.

FACULTAD DE QUIMICA BERZELIUS
INCORPORADA A LA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**ACCION DEL ALOXAN
Y EL LOBULO ANTERIOR DE
HIPOFOSIS SOBRE PANCREAS
SUPER-IRRIGADOS**

TESIS QUE PRESENTA PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
RUTH MA. ROMERO GIRON RODRIGUEZ.



1951



QUIMICA



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A MIS PADRES,

Sin más palabras porque no existen
las que puedan expresarles todo mi
cariño y eterna gratitud. - - -

A MI HERMANA,

Cariñosamente.

Respetuosamente a mi
Director y Maestro

D. LUIS M. VERA

A MIS MAESTROS

A quienes todo debo con el mayor
afecto y sincero reconocimiento.

Con mi agradecimiento y estimación al
SR. LORENZO LOPEZ Z.

AL DR. EDMUNDO HENRIQUEZ I.

Con todo afecto.

AL DR. TOMAS GUILLEN

Sinceramente

**AL PERSONAL DEL LAB. DE EMERGENCIA
DEL HOSPITAL GENERAL**

El objeto de una investigación por humilde que sea, es aclarar problemas sobre la vida misma, o bien poner nuestros conocimientos al día en los padecimientos que afligen a la humanidad.

El síndrome diabético es uno de aquellos padecimientos que se ha acrecentado prodigiosamente a partir de los últimos años (1), para la cual desgraciadamente en el momento actual existen muchos puntos desconocidos, uno de ellos y de los más importantes se refiere a las causas determinantes del mal en la especie humana; la inmensa mayoría de las diabetes que observamos cotidianamente no poseen una causa conocida, por lo tanto con el fin de auxiliar a la medicina y a la bioquímica en este problema tan capital en el futuro progreso de la humanidad, se recurre a experiencias en animales es decir, para aclarar estos puntos viene en su ayuda la investigación experimental que como todo el mundo sabe consiste en reproducir síntomas, signos, modificaciones físico-químicas y lesiones anatómo-patológicas en vísceras importantes al introducir sustancias gaseosas líquidas o sólidas por múltiples vías como son: respiratoria, subcutánea, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa.

Para reproducir el citado síndrome en los animales del laboratorio se han ideado procedimientos desde el siglo pasado hasta nuestros días, los que en buenas cuentas tienden a reproducir manifestaciones patológicas que se presentan en el enfermo diabético. Este afán se puede dividir hasta el momento actual en 3 grandes etapas empezando por orden cronológico tenemos:

En 1899 Mering y Minkuoski operaron el páncreas de un perro, quitándole las 3/4 partes de la mencionada viscera habiendo observado a los pocos días que el relato de un mozo del laboratorio era cierto, el animal bebía excesivamente, orinaba mucho y bajaba de peso; estudiando este animal se comprobó una diabetes muy grave. A la semana, ese animal murió. Este tipo de experiencia no tiene más que una importancia casi siempre histórica, ya que algunas veces ha sido utilizada para ayudar a los otros 2 métodos que más adelante se mencionan.

El objeto de estas intervenciones quirúrgicas experimentales denominadas pancreatectomías parciales, es dejar a la glándula con un número de células secretoras de insulina sumamente pequeño que no bastan para las necesidades del organismo desde el punto de vista anti-diabetogénico, lo cual las obliga a trabajar intensamente y provocar la enfermedad tanto por un exceso de trabajo como por el ahogo debido a una avalancha de substancias tóxicas.

H I P O F I S I S

Desde el tiempo de Pierre-Marie, el brillante neurólogo francés, se sabía que acromegalia, que consiste en un exceso de secreciones hormonales al nivel del lóbulo anterior de hipófisis debido a un tumor localizado en ese lugar anatómico, desencadenaba el cuadro diabético (3, 4, 5).

Houssey razonó de esta manera en 1932: la aparición del síndrome diabético en las acromegalias no es casual, se debe a la hiper-secreción de hormonas de lóbulo anterior de hipófisis, por lo tanto si se introduce en el cuerpo de un perro grandes cantidades de productos activos biológicamente hablando de estas hormonas, tendremos las mismas condiciones del diabético acromegálico y por lo tanto se producirá una forma experimental. Tenía razón, las cosas así sucedieron, obtuvo su resultado empleando extracto de lóbulo anterior de hipófisis de buey, debido a que se presta a material de elección por encontrarse más fácilmente en los rastros de la ciudad, ya que se necesitan de 25 a 50 hipófisis para provocar una diabetes temporal.

Al estudiar la manera de presentarse el cuadro diabético se observaron estos hechos que todo el extracto era de carácter diabetogénico, pero fundamentalmente la parte de la hormona del crecimiento que es la más quetogénica de todas. Gaorestron (2) y colaboradores comprobaron esa actividad que acabamos de citar, la hormona del crecimiento. Hildebrand y Ryseason (6) ven que es decisivo en la diabetes el factor del crecimiento.

EFFECTOS ANATOMO-PATOLOGICOS

Se encuentran cuando las dosis diabetogénicas actúan al nivel del páncreas. Ham y Haist después de dar altas dosis por procedimientos semejantes a los de Houssey comprueban que al partir del cuarto día en el páncreas experimentaba degeneraciones granulosas en las celdillas B, al séptimo estaban hidrópicas, 15 días más tarde los núcleos eran pignóticos, al mes escaseaban cada vez más las células B, fenómeno que no se presenta en las A. Cuando hay diabetes permanente el número de las células B es muy escaso, pero se necesita más de un mes de inyecciones para obtener este resultado.

Estos fenómenos no sólo se concretan a la glándula sino que tocan otras de secreción interna como es la tiroides, como se sabe, la hormona del lóbulo anterior excita la secreción de la tiroxina al nivel de las células de esta glándula se encuentran después del séptimo día vacuolisaciones y disminuciones en la substancia coloide.

Paratiroides: Dominan alteraciones celulares proliferativas.

Hígado: Se ven lesiones hidrópicas y granulaciones en las células (glucógeno extra sobrecargado).

Hay un hecho sumamente curioso que se ha encontrado en estas investigaciones y es que el mencionado producto de lóbulo anterior tiene una acción tónica cuando existe en cantidades pequeñas, lo que se ve por las siguientes experiencias que en seguida citamos:



Young (8) veía que inyectando lóbulo anterior de hipófisis en dosis muchísimo menores que las anteriores, aumentaba de peso el animal y acrecentaba el número de islotes de Langerham al doble después de 2 semanas de tratamiento.

Ogilvie (7) lo comprueba también en ratas (el autor anterior lo hace en perros).

(9) Batlelt y Baebie inyectando con dosis de 200 mg. ven en perros aumento de medio gramo de peso, manteniendo el animal con alta dieta protéica.

Es maravilloso el problema endócrino desde el punto de vista de sus acciones, por ejemplo, a través de la hipófisis en que excitación de una glándula o su depresión va seguida de modificaciones en la secreción de las otras a tal grado, que responden no sólo con los cambios secretorios y con alteraciones en las propias células; por consiguiente, estos fenómenos desencadenan en su conjunto una enorme serie de reacciones físico-químicas que bien pueden ser de centenas, de miles o millones. Sería como un pequeño volumen de nieve que al desprenderse de la elevadísima cima (del lóbulo anterior de hipófisis) va desencadenando a medida que desciende a los tejidos de la economía, una avalancha cada vez mayor de reacciones de todos los tipos.

Es sorprendente que la hipófisis tan justamente bautizada como "La directora de la orquesta endócrina" tenga la propiedad de darle vida al páncreas y a la vez de destruirlo.

PROPIEDADES DE LA SUBSTANCIA

Dos elementos se han aislado del lóbulo anterior de hipófisis ambos de gran peso molecular, uno estable al calor y otro que no lo es (6). Ambos elementos protéicos, sin duda alguna diabetogénicos disminuyen a la secreción de la insulina. La fracción globulinica es la más estable.

Los principios activos del lóbulo anterior de hipófisis al nivel de la glándula suprarrenal, son tantos que como opinan algunos autores (10), no es más que una sola hormona la secretada la cual en presencia de las diferentes células secre-

toras cambia sus propiedades físico-químicas y adquiere la actividad ya conocida. Nosotros somos partidarios de esta opinión porque además de estos argumentos no conocemos a ninguna glándula endócrina que poseyendo células características tengan más de una secreción, Ej.: La Tiroides secreta la tiroxina, la medular de la suprarrenal de la adrenalina. Aunque la mayoría de los autores opinan lo contrario, como el mismo Houssey (11).

Entre las hormonas los autores están de acuerdo con Elmer y Servinghous (12) que las más importantes son las del crecimiento y la gonodotrópica.

Sobre la constitución molecular en la actualidad todo se ignora, sólo se conoce que son elementos de elevado peso molecular pertenecientes al linaje de las proteínas, opinión que comparten Evans y Long.

Por último Lukens (14) concluye: "No se ha aislado hasta el momento ninguna hormona suficientemente purificada que contenga todas las propiedades diabetogénicas".

A C C I O N

... Nosotros creemos que la acción diabetogénica no es de determinada hormona en particular, sino que la enorme serie de reacciones que desencadenan cada una de ellas y en su conjunto, son las que producen la diabetes experimental lo mismo que la humana.

Tiene 2 acciones sobre el páncreas, una directa y otra indirecta. La directa sobre las células B como está demostrado por las lesiones hidrópicas y degenerativas que hemos citado, realizada por medio de toxinas formadas sea al nivel de ella o bien, por productos diabetogénicos a consecuencia del metabolismo universal exagerado.

La acción indirecta se debe a que existe un consumo excesivo de la glucosa al nivel de las células, se empobrecen las reservas de glucógeno en las vísceras principalmente en la glándula hepática como se sabe desde la época de Claude-

medio de la acción del vago, viene una excitación insulino-se-Bernart. Al abatirse el dintel de la glicemia sanguínea por cretora; se comprenderá que este fenómeno originará una hiper-actividad de la célula que será un factor más en resumidas cuentas que actúe para degenerarla como hemos expresado.

VIAS DE INTRODUCCION DEL LOBULO ANTERIOR (EXTRACTO).

La sub-cutánea ha sido empleada por Best (15) Dohan y Lukens (16). Es una vía que presenta el inconveniente de que se necesita inyectar grandes volúmenes líquidos los cuales son dolorosos, no se absorben rápidamente y sobre todo se presentan abscesos y flemones que hacen sufrir inútilmente al animal, por que se conoce que en esas condiciones el animal ya no sirve para el experimento.

Intramuscular: La han empleado experimentadores como Richarson (17-18). Tiene el inconveniente de que por esta vía los abscesos y los flemones son tan frecuentes como recurriendo a sub-cutáneas.

Hasta el momento cualquier intento de inyectar el mencionado producto por vía intravenosa va seguido de la muerte del animal por el shock protéico en unos cuantos minutos u horas.

Vía intraperitoneal.-- Es la que preconisa Young y es la mejor ya que no se presentan infecciones y el shock tampoco ha sido observado por nosotros.

A L O X A N .

El aloxán es una substancia derivada del metabolismo de las purinas de el cual se sabe que es un cuerpo que cristaliza en los sistemas prismático y rómbico, su peso molecular es de 142.07, p. F. es de 170°, en estado de anhídrido es de color amarillo obscuro y cuando está hidratado es colorido. Es muy soluble en agua y soluble en alcohol y suero fisiológico. El grupo activo característico es el CO en posición 5 (19-20). Si

este grupo es desplazado, pierde la actividad diabetogénica el cuerpo así formado. Grande Cobian estudió seis substancias que son el ácido parabámico, ácido aloxánico; y encontró activos (tóxicos) a la alontaina, di-metil-aloxantina, ácido dialúrico y metil-di-alúrico y por último al metil-aloxana, por tener todos ellos el CO en la mencionada posición. El di-metil-aloxana, y el ácido di-metil-di—alúrico que lo han desplazado, no los encontró tóxicos.

El que ha sido empleado en todas las investigaciones y el que nosotros usamos, aquel con el cual hacemos comparaciones es el aloxán.

VIAS DE INTRODUCCION.

El aloxán es utilizado por la vía intravenosa, por su solubilidad tanto en agua como en suero fisiológico, por no producir ningún shock y por tener la ventaja de que utilizando el torrente circulatorio no se presentan dificultades en la absorción como sería por otras vías que se emplearan.

CARACTERISTICAS BIOQUIMICAS

Al llegar el aloxán a la sangre sucedería lo siguiente: se juntaría con el que producen algunas vísceras, principalmente el hígado y quizás el páncreas (21), allí sería atacado por enzimas anti-aloxánicas por medio de fenómenos de oxidación, teniendo en cuenta que la parte más agredida y por consiguiente modificada es el CO en la posición 5, dada su situación molecular que hace accesible a la oxidación hay una transformación por grupos iminos que lo inactivan, o bien reaccionan con elementos anti-aloxánicos como son el glutatión y la sisteína, aminoácidos poseedores de un grupo -SH- (Lazarow 22). Esto explica varios hechos, ante de 5 minutos el aloxán si no llega a la glándula pancreática, se ha destruido por los mecanismos que hemos mencionado como lo prueba Godner (23) que ligó las arterias pancreáticas y después inyectó aloxán, encontrando que a pesar de suministrar dosis ampliamente diabetogénicas ésta no se presentaba ni tampoco encontraba lesiones en las células B. Dice este au-

tor que la adrenalina disminuye su acción diabetogénica, pero es porque ocasiona vasoconstricción en el páncreas, el cual permite que el aloxán sea más atacado por los sistemas neutralizantes ya dichos. Se sabe que la vitamina C al aumentar las oxi-reducciones favorece la actividad de los anti- aloxánicos.

PANCREAS.—Hasta el momento actual su acción no es muy bien conocida. Actúa el aloxán sobre él dando lugar a grandes modificaciones enzimáticas que disminuyen la secreción de insulina y producen destrucciones en las células B. Probablemente existen oxidaciones en la célula que lo neutralizan y modifican acrecentando su cadena lo cual le da calidades hemorrágicas como dice Bruck (24). También puede dar por oxidación aloxantinas que son menos tóxicas.

Podremos decir lo siguiente: La afinidad del aloxán exógeno para llegar precisamente a esas células es algo bien demostrado en los casos de experiencia, el que se uniría al que produce la propia célula, y en esas cantidades no podría ser neutralizado por lo que normalmente poseen las mencionadas celdillas. Robustecería nuestra idea el que la célula pancreática lo tenga normalmente el que active la secreción de insulina en pequeñas dosis.

ACCION RENAL.— El aloxán tiene una acción destructora sobre el riñón siempre que esté en dosis diabetogénicas, al grado que Jiménez Díaz ligando las arterias renales y posteriormente inyectando aloxán no encuentra diabetes. Al nivel de la glándula probablemente inhibe la función glucolítica de lactato de glucosa, el cual impide el metabolismo de esta substancia al nivel del parénquima de la mencionada viscera (25). Se necesita sistena para que se impida esta acción, pero si el aloxán llega en cantidades excesivas la sistena no la neutralizará.

En el caso del órgano renal probablemente se aumente la cadena lateral lo cual le da una acción capilaroscópica (26) lo que prueban las lesiones hemorrágicas y destructivas encontradas. Además tiene una acción sobre el túbulo porque

baja la fosfatasa alcalina, lo cual favorece la agresión tóxica del producto sobre él, como también lo certifican las grandes destrucciones de túbulis encontradas en experiencias en México.

TEJIDOS.—Debe influir al nivel de los tejidos el que inhiba las glicolisis tal vez impidiendo la del lactato de glucosa, añadido a eso un poder desorganizante sobre enzimas importantes como son: papainas, catepsinas y transformando o inhibiendo a grupos propilicos.

EXPERIENCIAS PRACTICADAS POR DIVERSOS AUTORES CON ALOXAN Y LOBULO ANTERIOR DE HIPOFISIS.

Bernet experimentó en ratas, inyectando dos grupos de 5 cada uno simultáneamente con lóbulo anterior de hipófisis, las ratas del primer grupo habiendo recibido una inyección de aloxán 3 días antes de hacerles la hipofisectomía, y las del segundo grupo inmediatamente después de ella. Aparece primeramente menos frecuente la glicosuria cuando está dado el aloxán después de la operación, que cuando se da antes.

Este tipo de experiencias las usan los fisiólogos y algunos investigadores, tiene varios inconvenientes que son:

1.—Ocasionar un traumatismo tremendo en los animales en los que más de las dos terceras partes mueren, por lo tanto es costoso y se necesita mucho tiempo.

2.—La operación de la hipófisis en pleno cerebro del animal necesita personas especializadas en este tipo de experiencias, las que no se encuentran en nuestro medio.

3.—Las condiciones en que va a funcionar un organismo sin hipófisis nunca se encuentra ni en el animal de experimentación, ni mucho menos en la especie humana.

4.—Las reacciones bioquímicas que se presenten están alejadas de la fisiológicas naturales (curva de glicemia, lesiones en las células, etc.)

Por lo tanto son procedimientos que desde nuestro punto de vista desechamos.

Existen experimentos de Young (27) en ratas también, a las cuales se les inyecta aloxán y una vez obtenida la diabetes se les pone el lóbulo anterior de hipófisis. Los resultados fueron discordantes, en el sentido de que algunos animales vieron agravados sus síndromes diabéticos, en cambio otros no tuvieron modificaciones.

La experiencia más interesante en ese sentido es la de Ogilvie (28) en la que toman 2 lotes de perros de la siguiente manera: en ambos obtienen diabetes aloxánica, en el grupo uno lo dejan en estas condiciones, al grupo dos le inyectan lóbulo anterior de hipófisis. Al comparar ambos lotes desde estos 2 puntos de vista se encuentra lo siguiente: los del lote uno o testigos presentan en las células B del páncreas destrucciones masivas y hemorragias. Los del grupo dos se encuentran que las curvas de hiper-glicemia son menores. En la histo-patología encuentran más vascularizados los páncreas y mayor número de islotes de Langerham y células con tendencias reproductoras en gran abundancia.

CRITICA DE ESTE TRABAJO.

1.—En este tipo de intervenciones se inyecta el lóbulo anterior de hipófisis en páncreas dañados que sufren ya el síndrome diabético y están en condiciones diferentes a las que presentarían si ambas substancias actuaran a la vez, sea porque multiplican sus efectos degenerativos sobre las células o porque una substancia o la otra al nivel de la célula dan reacciones que modifican o neutralizan los efectos de una o de las dos.

2.— Las condiciones normales fisiológicas en que se produce una diabetes humana que a fin de buenas cuentas es a lo que tiende una investigación experimental, es acercarse a lo que sucede en la especie humana y en ella a las causas que la mantienen, mejoran o agravan que se hacen por la acción constante sobre la célula de ambas toxinas unidas en un minuto o segundo determinado.

Se demuestra lo importante que es la hipófisis ya que tiene el poder de nutrir la célula pancreática, y defenderla de toxinas de la extirpe aloxánica.

JUSTIFICACION DEL TRABAJO

Habiendose encontrado en el hombre que al desprender la cápsula de la glandula pancreática se presentaba a los 5 minutos una brillante vascularización demostrada por un color rosado intenso (29) y vasilios capilares en la región así tratada lo que no existía en las partes que no habían sido intervenidas. Este fenómeno se aplicó en el tratamiento de diabéticos humanos en el número de 8, en los que esta hiper-irrigación produjo una mejoría en un cuadro que hasta el momento había sido irreducible encontrando de esta manera, un probable tratamiento de una enfermedad más frecuente que las mismas : tuberculosis y salmonelosis en todo el orbe.

Meses o años después con excepción de 2 casos en que no se prolongó la mejoría (30) todos los enfermos tenían disminución en la poliúria de un 80%, glicemia entre 30 y 50% y disminución de un 60% de la glicosuria. Se había logrado dietas más liberales y ahorrado al organismo y al enfermo mismo un 60% de insulina aproximadamente.

Esta experiencia que confiere un funcionamiento especial al páncreas como lo hemos visto, se aplicó en animales. Henríquez, Medina y Luz María Aguilar (26-31) en perros encontraron la mencionada vascularización inmediatamente y al cesar vasillos de neoformación lo que no se veía en la otra sección anatómica de la glándula. Este le confería una sensibilidad especial que permitía que el aloxán llegara en mayor cantidad, porque las enzimas anti-aloxánicas tenían menos tiempo para actuar sobre él.

Para estudiar su relación en un porcentaje de aloxán por miligramos por kilo de peso, se escogieron 9 perros, 4 de ellos se los toma como testigos, no llegando a sufrir ninguna intervención quirúrgica; los otros 5 se les hizo la descapsulación del páncreas. El resultado es un acrecentamiento de la sensibilización diabetogénica del aloxán de esta manera en los páncreas hiper-irrigados (150 mlgrs. de kilo por peso) mueren todos con altísimas hiper-glicemias y con típico coma diabético entre el tercero y el séptimo día, en cambio en los testigos una dosis 66% mayor (250 mlgrs). da hiper-

glicemias moderadas, no existiendo intoxicación y durando este fenómeno 48 horas. Se encuentra una diferencia en las curvas glicémicas por ejemplo en los operados la glicemia a las 24 horas es de 40-70 mlgrs. a las 48 horas es de 100-380 mlgrs.; el perro ya se ve echado sin apetito y con diarreas sanguinolentas.

Se cree que esta hiper-irrigación pancreática así obtenida se parece al estado en que se encuentra la glándula en el niño, en el que este síndrome es severo, porque hay una irrigación mayor, lo mismo que un metabolismo más activo que produce más cantidad de sustancias diabetogénicas. Felizmente el niño tiene el doble de islotes de Langerham que el adulto, es decir, tiene doble resistencia, pero se comprende qué sucederá el día que esa resistencia disminuya...

Con el lóbulo anterior de hipófisis, Henriquez y colaboradores pensaron lo siguiente en vista de lo anterior: que si el lóbulo anterior de hipófisis es capaz de producir diabetes, la llegada en grandes cantidades de estos elementos en páncreas hiper-irrigados ocasionará una mayor sensibilidad a estas sustancias en los perros operados. Con ese fin a 5 perros se les inyectó una dosis entre 150-260 grs. por kilo de peso en un intervalo de 15 días con un promedio de 60-90 en cada inyección. La dosis diabetogénica fue entre 150-240 grs. (*), en los operados se obtuvieron diabetes mortales en 3 de ellos con dosis 85% menores.

Esto señala que el tratamiento quirúrgico del páncreas en estas condiciones, permite que los elementos diabetogénicos del lóbulo anterior de hipófisis lleguen en mayores cantidades que en las otras condiciones. Esta experiencia se parece a lo que sucede en el hombre en el que el adenoma eosinófilo de la hipófisis hay una hiper-secreción continua que día la diabetes como se mencionó antes.

En vista de lo expuesto en síntesis se presenta lo siguiente, la hiper-irrigación pancreática en el hombre puede servir en el tratamiento de la diabetes, lo que justifica cualquier investigación experimental. Por el hecho de haber encontrado que los animales con páncreas hiper-irrigados,

eran más sensibles a los tóxicos aloxán y lóbulo anterior de hipófisis, elementos que circulan en mayor o menor cantidad normalmente en el torrente circulatorio, nos pareció conveniente juntar ambos para estudiar su acción en las siguientes circunstancias:

1.—Su arribe al torrente circulatorio para ser combatidos por las sustancias neutralizantes.

2.—La llegada de ambos a la célula B por la que tienen gran especificidad.

3.—La defensa de la célula contra esos tóxicos que llevan en sí según su intensidad o sus combinaciones, la excitabilidad fisiológica y vigorizante celular o la enfermedad o destrucción de ella misma.

De esta manera nos acercamos a lo que está sucediendo en el individuo normal y en el diabético, que al final de todo es el ideal de toda investigación.

Con el fin de realizar estas consideraciones nos pareció conveniente estudiar la acción diabetogénica del lóbulo anterior de hipófisis y aloxán en perros que no hayan sido operados y compararlos con animales que sí hubieran sufrido esta intervención, llevando como norma de nuestros resultados, el fenómeno bio-químico capital y maestro de la diabetes: la hiper-glicemia, y observar las repercusiones sobre el organismo en uno y otro lote y saber por este medio si la acción de los venenos combinados en las condiciones así mencionadas crean una mayor sensibilidad o bien la célula posee una defensa a la acción de ellas, es decir, es capaz de formar una sustancia que impida que multipliquen su toxicidad, fenómeno que no ha sucedido con las experiencias en las que se inyecta separadamente alguna de las dos.

(*) Esta es la dosis de verano y primavera, menos tóxica que la de invierno.

MATERIAL.

Se seleccionaron los perros por estas razones:

1.—Es el animal en que se han hecho las anteriores experiencias empleando el aloxán y el lóbulo anterior de hipófisis en animales testigos y otro con páncreas hiper-irrigados.

2.—Es el can un animal sensible a la acción del aloxán y del lóbulo anterior de hipófisis.

3.— La edad de los animales varía entre uno y cuatro años.

No se escogieron más pequeños porque las condiciones de funcionamiento pancreático del cachorro, especialmente por su gran vascularización, enorme número de islotes de Langerham y su activísimo metabolismo del crecimiento, difieren en ese sentido del animal adulto. De más de 4 años no se seleccionaron porque las esclerosis vasculares que suelen presentarse en los páncreas disminuyen el caudal sanguíneo, la disminución del número de islotes de Langerham teniendo en cuenta que se gastan por la edad, la escasa actividad metabólica del lóbulo anterior de hipófisis y probablemente la escasez de aloxán por la disminución de metabolismo, pueden cambiar las condiciones experimentales diferentes en el adulto.

Además como ya se sabe la diabetes esencial en la especie humana es sobre todo del adulto, y tiene una evolución clínica y trastornos anatómo-patológicos en algunos puntos diferentes al niño.

4.—El perro es un animal en que fácilmente por su tamaño se puede inyectar la cantidad requerida del lóbulo anterior de hipófisis y además las venas son más fáciles de encontrar para la inyección intravenosa del aloxán.

5.—Desde el punto de vista quirúrgico es más fácil encontrar la glándula pancreática y remover su cápsula.

METODOS.

El extracto de lóbulo anterior de hipófisis lo preparé en los laboratorios Hormona, donde conseguí las hipófisis gracias a la gentileza de los químicos Besil y Abrahamson; y de acuerdo con el primero lo preparé de esta manera:

A la hipófisis con unas tijeras les quité todo el tejido conjuntivo así como el lóbulo posterior e intermedio, dejando solo el lóbulo anterior, lo descapsulé lo molí agregándole luego suero fisiológico (8.5 por mil) en una proporción de dos centímetros cúbicos por cada gramo, para obtener una dilución 2 a 1. En seguida se mete al refrigerador o se mantiene a una temperatura de cero grados hasta el momento de emplearse, siendo de recomendar para que no pierda su poder activo, inyectarse lo más rápido posible (Young 41, Houssey 42). En el momento en que se va a utilizar se saca del refrigerador y se cuecla por una gasa esteril, agregándole mercuriato de sodio al 1:1000 para esterilizarlo.

El extracto es un líquido de color rojo lechoso con olor característico, de una densidad de 1.10 a 1.20 (determinada por la balanza de Mohr Westphal), con un pH de 7.

La dosis inyectada fué de un gramo por kilo de peso.

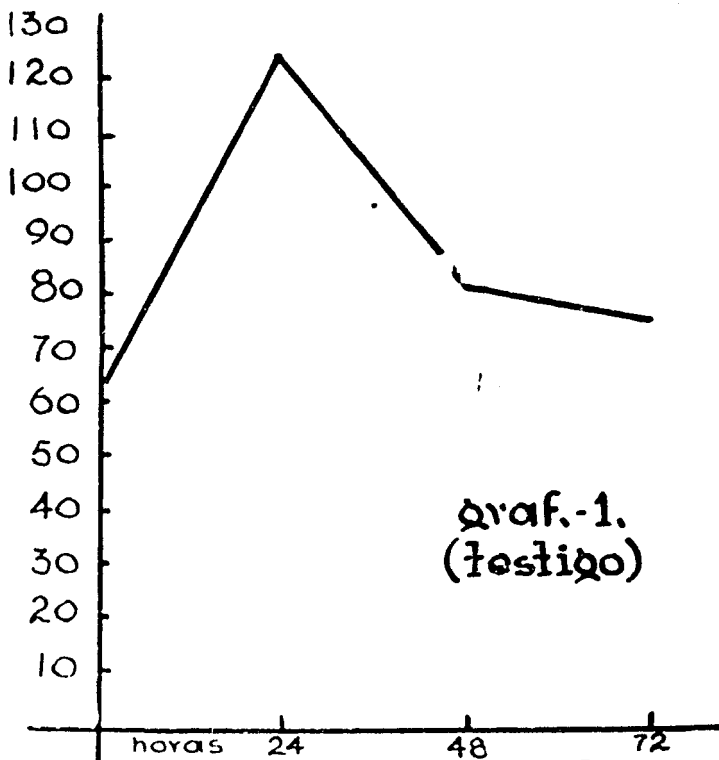
Para inyectar al animal se coloca éste en una mesa operatoria de perros, ligándole los miembros a ambos lados del cuerpo para evitar todo movimiento.

El lugar escogido para inyectarle es un poco más abajo del centro de la línea media. Primero se le rasura el vientre al animal, después se le lava con agua caliente y jabón desinfectándose por último con alcohol, para evitar cualquier infección.

Inyección de Aloxián.-- Para inyectar el aloxián lo disolví en suero fisiológico, haciéndolo fácilmente por el gran poder de solubilidad que tiene. Preferí el suero al agua destilada porque observé que con ésta, se quejaba el perro.

Se sujeta al perro y se le rasura una de las patas traseras en donde son más visibles las venas ligándole se le inyecta el aloxián intravenosamente. La dosis inyectada fué de 50 mlgrs. por kilo de peso.

mg. glucosa

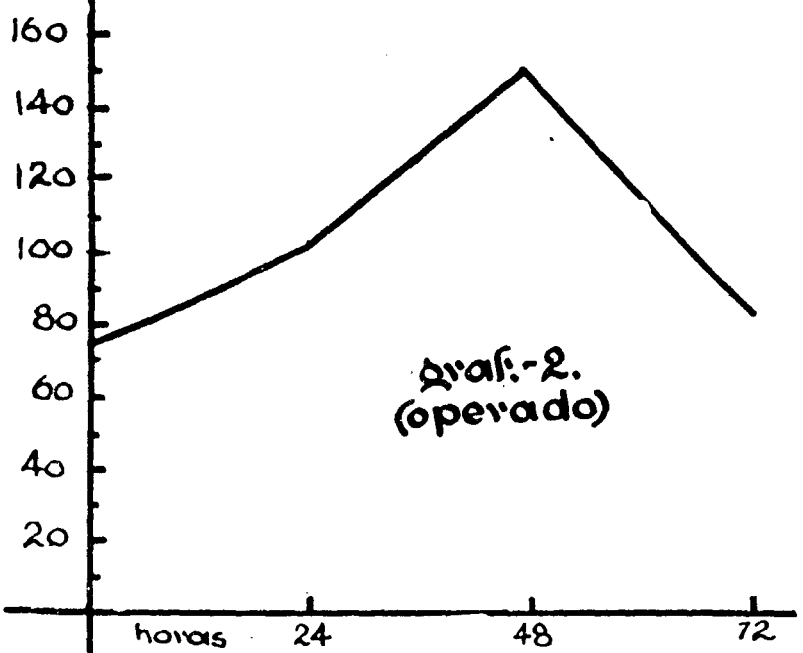


graf.-1.
(festigo)

a las 24 hs. hiper-glicemia
a las 48 y 72 hs. nomo-glicemia

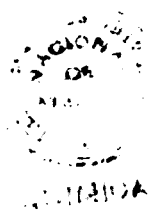


mg. Glucosa



Gráf. - 2.
(operado)

a las 24 horas monoglicemia
a las 48 horas hiper-glicemia
a las 72 horas monoglicemia



RESULTADOS.

Se tomaron 5 perros testigos, cuyas edades oscilaban entre uno y cuatro años, cuyo peso se encontraba entre 11 y 16 kilos. Se les inyectó las cantidades de 50 miligramos de aloxán y un gramo de lóbulo anterior de hipófisis por kilo de peso; esta dosis resultó diabetogénica en estas condiciones.

Se deja transcurrir 8 días de la anterior experiencia, y gozando el animal de buenas condiciones de salud se le administra una dosis igual a la primera por las vías ya citadas.

A la primera dosis ninguno muere en el lote total con excepción de uno. A las 24 horas sus hiper-glicemias oscilan entre 119 y 175 miligramos por 100 c.c. de sangre.

Ninguno tuvo glicemia superior a 100 miligramos en la hora cero.

A la segunda dosis (8 días después) teniendo en la cero hora glicemias abajo de 100 mlgrs., se encontró en tres perros glicemias entre 115 y 195 por 100 c.c. de sangre.

A los otros 2 se les inyectó la mitad de la dosis de lóbulo anterior de hipófisis y aloxán y no se registraron glicemias patológicas.

OBSERVACIONES

a).— En la combinación de ambas sustancias acrecenta la actividad diabetogénica en un 66% para el aloxán y 84% para el lóbulo anterior de la pituitaria, en relación a las respectivas dosis que se utilizaron para obtener diabetes al emplearse separadamente.

b).— Una segunda dosis total de aloxán y lóbulo anterior de hipófisis (50 mlgrs. y un gramo respectivamente por kilo de peso) vuelve a dar hiperglicemias, siendo en este caso más altas que en la primera ocasión, oscilando el aumento entre 35 mlgrs. más o menos.

c).— Se encontró la muerte en el primer caso al emplear la segunda dosis con una glicemia de 258.

d).— Las dosis administradas para provocar diabetes experimental sin recurrir a pancrea-ectomías son las menores que se han encontrado.

e).— En los animales testigos se encuentra una hiperactividad tóxica de ambas sustancias, y por consiguiente mayor sensibilidad diabetogénica, resultados similares a los que se han obtenido aunque con mayor toxicidad que cuando se han empleado las sustancias separadas.

OPERADOS.

En 3 perros cuyas edades oscilan entre 1 y 4 años, con pesos entre 8 y 18 kilos se les inyectó una dosis igual a la de los testigos. Se observaron en ellos estos resultados:

a).— No hay glicemia a las 24 horas como en los testigos, en unos se presenta a las 48 horas con la primera dosis.

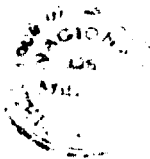
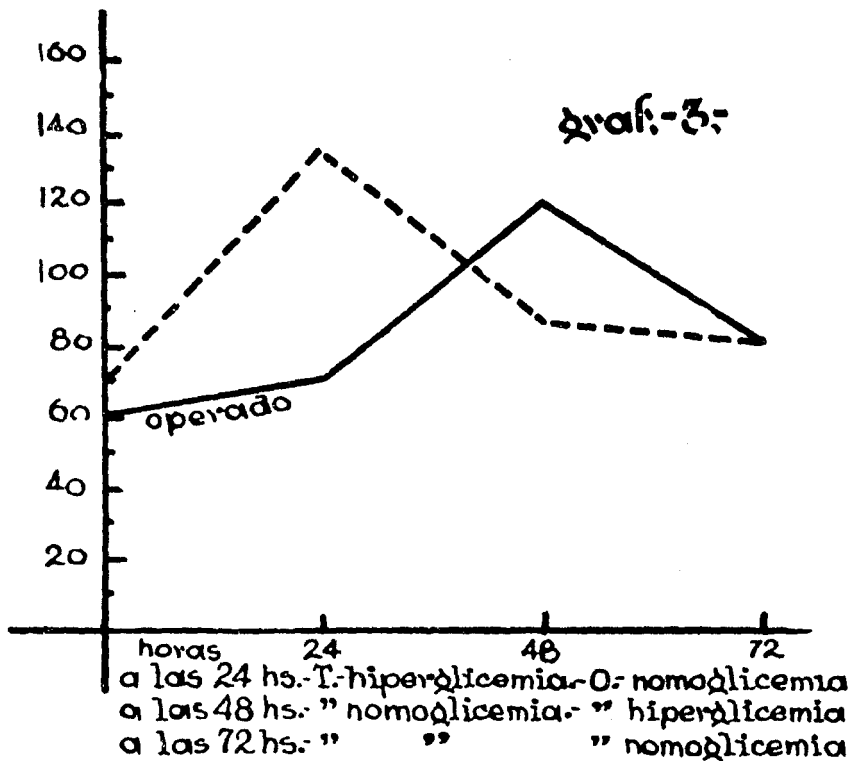
b).— Con la segunda dosis (8 días más tarde) en uno hay glicemia patológica a las 72 horas, en el otro no existe.

c).— A uno de ellos se le inyectó una tercera dosis 8 días más tarde que la anterior. Dió glicemia a las 24 horas de 15^o mlgrs. bajando al día siguiente a 100.

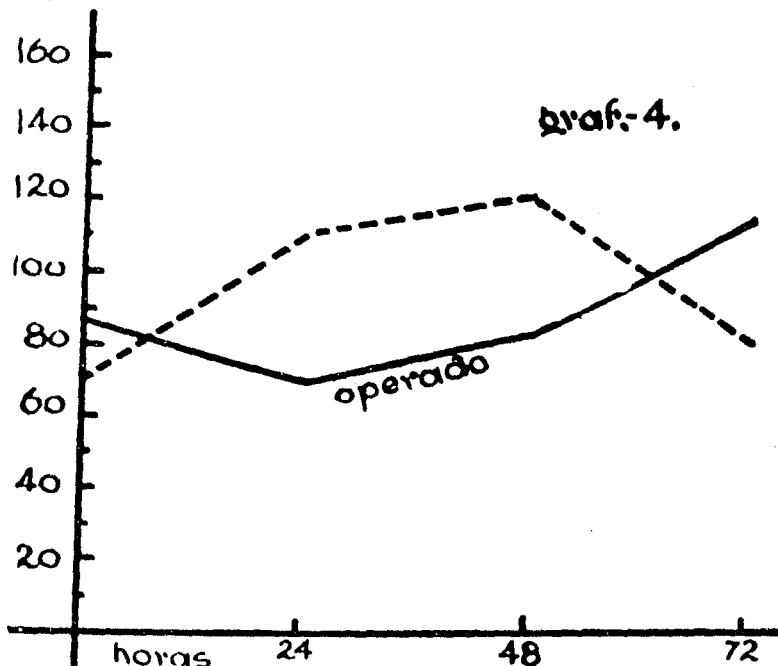
d).— Al primer perro se le inyectó la mitad de la dosis no dando hiperglicemias.

Nota.— En todos los animales que arrojaron cifras de dextrosas patológicas, 24 horas más tarde eran normales tanto en los operados como en los testigos.

mg% glucosa



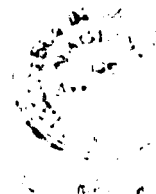
mg. glucosa



graf.-4.

operado

horas 24 48 72
a las 24 hs.- T. hiperglicemia, O. normoglicemia
a las 48 hs.- " " " "
a las 72 hs.- " " " hiper "



COMENTARIOS DEL TRABAJO.

A 5 perros testigos se les inyectó aloxán por la vía intravenosa a la dosis de 50 mlgrs. por kilo de peso y de extracto de lóbulo anterior de hipófisis 1 gr. por kilo de peso recurriendo a la vía intra-peritoneal (dieron diabetes).

De esta manera encontramos que el poder diabético de ambos combinado, comparado con los perros testigos, a los que se les inyectó sea uno u otro de los productos relatados se ha acrecentado para el aloxán en un 66% y para el lóbulo anterior de hipófisis en un 84%.

Habíamos pensado antes de este comentario que si en los perros con páncreas hiper-irrigados que al usar el aloxán aisladamente poseía un poder diabético un 60% más de hipófisis también empleado este se multiplicó en un 330% yor que en los testigos, que en el caso del lóbulo anterior más que en los testigos, obtendríamos un poder diabético multiplicado al usar ambos en este tipo de animales sensibilizados, por eso en el perro número uno se inyectó la mitad de la dosis que se empleó en los testigos al usar los productos que hemos mencionado, sin embargo, sucedió todo lo contrario.

PERRO I.— Con 25 mlgrs. de aloxán por kilo de peso y 0.5 gr. de lóbulo anterior de hipófisis por kilo de peso por las vías empleadas en los testigos se ha obtenido un resultado negativo diabético a las 24, 48 y 72 horas de este experimento.

PERRO II.— Al no encontrar en el perro I diabetes procedimos a inyectar lo que llamamos dosis total es decir la misma y por idénticas vías de aloxán y lóbulo anterior de pituitaria con estos resultados:

Con la primera dosis no se encontró hiperglicemia patológica sino hasta las 48 horas. En cambio esta se encontró a las 24 horas en todos los testigos y uno de ellos muerto por intoxicación.

Repetida la dosis anterior a los 8 días nos presenta los siguientes resultados:

Hiperglicemia a las 72 horas (testigo a las 24 horas).

Al día siguiente estas cifras están dentro de los cuadros normales.

PERRO III.— Con 2 dosis totales con intervalo de 8 días entre cada una no dió glicemias patológicas.

En vista de lo encontrado creo yo lo siguiente:

Al fin que nos propusimos al realizar este trabajo puedo contestarle con este razonamiento:

La combinación del aloxán y del lóbulo anterior de hipófisis en animales con hiper-irrigación pancreática (descapsulación panereo-mento-pexia) sanguínea, produce un nuevo cuerpo al nivel de la célula que impide el acrecentamiento tóxico de ambos productos unidos.

De los 5 testigos todos dan diabetes y una muere intoxicado, en operados no se ve este fenómeno.

En los 2 grupos las dosis de intoxicación nos dan curva glicémicas curiosas, en el testigo es a las 24 horas, en el descapsulado es a las 48 horas y una segunda dosis en lugar de darnos mayor diabetes la da más ligera que se presenta a las 72 horas de haberse inyectado.

Los resultados obtenidos difieren de los que se obtienen cuando se aplica el aloxán o el lóbulo anterior de hipófisis solos.

HIPOTESIS.

En la sangre de las personas normales lo mismo que en las diabéticas circulan elementos diabetogénicos provenientes del metabolismo del aloxán y el lóbulo anterior de hipófisis o bien ellos mismos, en un momento dado actúan sobre la glándula pancreática de una manera como la que simplificamos a continuación: en un niño se encuentra el caso del páncreas hiper-irrigado, recuérdese que tiene un número de islotes de Langerham superior al adulto en millón y medio (este tiene alrededor de millón y medio) sobre

El que utilizan las bacterias de Oporto cuando se encuentran en grandes masas y de las cuales se han observado por experimentos y microscopios numerosos ejemplos por primera vez. Los que utilizan las bacterias de Oporto cuando se encuentran en grandes masas y de las cuales se han observado por experimentos y microscopios numerosos ejemplos por primera vez.

Estos productos como se sabe, cuando se encuentran en los tejidos de la gran masa de bacterias que son de gran tamaño al nivel de la propia célula se convierten en un estímulo protectora contra su acción y lo digo por estas razones:

1.—El aloxán y el lobulo anterior de hipofisis y sus productos de metabolismo, deben ser combatidos en el lugar de máximo peligro.

2.—Si disminuyen estas células en un organismo productor, como corolario el organismo se encuentra en el terreno de la diabetes. Sucedería como en los casos de la diabetes experimental en que por pancreatoclectomía se elimina una gran porción de la víscera.

3.— El páncreas del niño tiene doble cantidad de células B y es una defensa común la que establece el organismo a pesar de la gran cantidad de estas autoantibodios que le llegan a la citada célula. Se comprende que al día que disminuyen las células del infante, con la misma cantidad de estos elementos hiperglicemizantes la diabetes se establece más severa que en el adulto, lo cual es una verdad aceptada por todos los médicos del mundo.

4.— Sabemos que en caso de una diabetes se produce un estado de agotamiento general y de una gran debilidad y el organismo enfermo requiere para salvarse de la diabetes una independencia de su propia hipofisis y de su páncreas, para su defensa.

En el caso de una diabetes se produce un estado de agotamiento general y de una gran debilidad y el organismo enfermo requiere para salvarse de la diabetes una independencia de su propia hipofisis y de su páncreas, para su defensa.

El nivel de la célula B se reduce en un organismo de diabetes I que produce el tipo de diabetes I.

xán y lóbulo anterior de hipófisis que en el caso de los animales testigos no logra defender a la célula, en cambio con la hiper-irrigación, al mismo tiempo que le llega mayor cantidad de tóxico, la célula está mejor nutrida y por lo tanto tiene mayores defensas neutralizando casi por completo la acción del aloxán y el lóbulo anterior de hipófisis.

De lo que se desprende algo sumamente importante: Si la hipótesis es verdadera puede emplearse en futuras investigaciones para el tratamiento de la diabetes humana. Estos productos en páncreas intervenidos como repetidas veces he subrayado.

Las dosis que se emplearán, sin duda alguna tendrían que ser muy inferiores a las que ilustran esta tesis.

CONCLUSIONES.

1.— La combinación del aloxán y el lóbulo anterior de hipófisis en los perros, acrecenta la actividad diabetogénica en un 66 y 84% respectivamente en perros testigos.

2.— Esas mismas sustancias en perros que han sufrido el proceso de hiper-irrigación pancreática, ocasiona fenómenos semejantes y diferentes, se obtiene curva hiperglicémica con la combinación de ambas sustancias, pero no se acrecenta la actividad diabetogénica de ambos productos, cosa que si sucedió cuando se emplearon aisladamente.

3.— En el testigo basta con una dosis para obtener diabetes a las 24 horas (50 mlgrs. de aloxán y un gramo de lóbulo anterior de hipófisis por kilo de peso), mientras que en el operado se necesitan de una a tres dosis para obtenerlo.

4.— En los perros testigos se utilizaron un promedio de 20 hipófisis para obtener diabetes mientras que en el operado el promedio es de 20 a 40.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—Yoslin.—Treatment, of Diabetes Melitus Ed. Lea Febringen, Philadelphia U. S. A. 1944.
- 2.—Gaorestom, Huble Jagh Jour of Endoc. Abril 6, 1949.
- 3.—Diabetes.—Davinson, Cushing Arch. Int. Med. 39; 751; 1947.
- 4.—Coggeshall, Root (C-2).
- 5.—Hoissay New England, Jour Med. 214.
- 6.—Hildebrand y Ryneason Arch. Int. Med T. 71-1943.
- 7.—Ogilvie.— J. of Endoc. I. IV Jan 1945 P-152.
- 8.—Young.
- 9.—Batlelt y Gable. Endocrinology T. 43 Nov. 1945 P. 329.
- 10.—Abel y Collip (6).
- 11.—Houssey J. Exper. Med. 75; 547; 566 May 1942.
- 12.—Elmer y Servinghous (J. A. M. A. 116; 221; 225 Jan 18 1941).
- 13.—Evans y Long A. White, Physiological Reviews T.-26 Oct. 1946, 574; 608.
- 14.—Lukens. Pituitary Diabetes Am. J. Med. Sci; 212; 229 1946.
- 15.—Best, J. Physiol 1939-40 T-97 200-206.
- 16.—Dohan y Lukens. 32-513, 1938. Diabetes, Pituitary Biochem.
- 17.—Richardson Proc. Roy Soc. Lond. 128-153 Jan. 4, 1940.
- 18.—Richardson Arch. of Int. Med. T 71-1943 p. 263.
- 19.—Young Lancet 2-372, 1937.

- 20.—Grande Cobian y Olla Revista Clínica Española 1935.
- 21.—Ripson Ruber Medical Progress Diabetes Joslin. New England Jour Med. T 238 pág. 471.
- 22.—Lararow Recent developments in experimental diabetes Cleveland Quat. Clin 16; 199-70 July 1949.
- 23.—Mechanism of Alaxon Diabetes prod. Soc. Exp. Biol and Med. Godner Domori T 65 May 1947.
- 24.—J. of Biol Chem 7-168 April 1947 pág. 241 Bruk.
- 25.—Joslin, Krall, Bailey.—Medical progress Diabetes New England Jour of Med. T-238 Pág. 471.
- 26.—Henríquez Aguilar.
- 27.—(8).
- 28.—(7).
- 29.—Med. Rev. Mexicana T-28 año 28 No. 550. Feb. 25, 1948 pág. 73 Drs. Fonseca y Henríquez.
- 30.—(29).
- 31.—Rev. Med. del Hosp. Gral. Vol. XIII Agosto 1950 No. 8 pág. 471, Henríquez, Medina, Aguilar.