

## **INFLUENCIA DE LA DIABETES Y DE LA ADMINISTRACION DE TIOURACILO SOBRE EL CONTENIDO DE SH EN LOS TEJIDOS**

B. A. HOUSSAY, C. MARTINEZ y R. CAPUTTO

(Instituto de Biología y Medicina Experimental e Instituto de Investigaciones  
Bioquímicas, Fundación Campomar)

La posible relación entre la acción diabetógena del aloxano y su conocida propiedad de oxidar los grupos sulfhidrilos, se ha investigado repetidas veces. Leech y Bailey (1945) encontraron disminución de los SH sanguíneos inmediatamente después de inyectado el aloxano y Lazarow (1946), determinó que la inyección de cisteína, glutatión y ácido tioglicólico, minutos antes de la inyección de aloxano, previene su acción diabetógena.

La investigación de sulfhidrilos en los tejidos inmediatamente después de administrar aloxano ha dado muy escasas disminuciones en pocos animales con respecto a los testigos normales (De Caro y Rovida, 1937) o ninguna, cuando el dosaje se realizó pocos minutos después del aloxano (Bruckmann y Wertheimer, 1947).

En nuestros experimentos se determinaron los SH en animales con diabetes aloxánica o por ablación parcial o total del páncreas. Además se determinaron en animales tratados con tiouracilo. Como se sabe este compuesto, administrado durante 20 ó 30 días produce: a) aumento de resistencia al aloxano en la rata normal (Martínez, 1946) y en la rata sometida a un régimen rico en grasa (Martínez, 1945); b) retrasa la aparición de diabetes y disminuye su frecuencia en la rata con resección del 95 % del páncreas (Martínez, 1946). El tiouracilo tiene la particularidad de actuar sólo después de haber sido administrado durante un

cierto tiempo por lo que es de suponer que su acción es diferente de la inmediata y transitoria producida por las inyecciones preventivas de cisteína o compuestos similares.

### M É T O D O

Dado que nos interesaba investigar cualquier posible aumento de compuestos con SH, la reacción colorimétrica del nitroprusiato fué preferida a las investigaciones basadas en la actividad de glioxalasa por ser ésta específica de glutatión. Se siguió el método de Fujita y Numata (1939), adaptado al fotocolorímetro de Klett-Summerson.

Los órganos se extirparon inmediatamente después de sacrificado el animal y se conservaron congelados hasta el momento de efectuar las determinaciones, 2 ó 3 horas después. La extracción se realizó con ácido metafosfórico al 2 %, medio en el cual los SH son muy estables. Debe, en cambio, procederse con celeridad después de diluído con la solución de CINA o nitroprusiato, pues la intensidad de la reacción decae posiblemente por oxidación de los SH en este medio. Leaf y Neuberger (1947), han indicado la conveniencia de proceder rápidamente después de agregado el nitroprusiato; nosotros encontramos que toda la mezcla debe efectuarse lo más próxima posible a la medición colorimétrica. Después de alcalinizado el medio, la lectura colorimétrica se efectuó dentro de un período de 30 segundos.

El método fué calibrado con solución de glutatión (Eastman Kodak) y los resultados se expresan en peso de este compuesto.

Se emplearon ratas blancas machos de un peso no inferior a 120 g ni superior a 270 g, que estaban alimentadas con la dieta habitual del Instituto, compuesta por: pan, 8 partes; trigo, 8; maíz, 27, y leche, 37 partes, a lo cual se añade una vez por semana, levadura y aceite de hígado de bacalao y una vez por mes alfalfa verde. Esta dieta contiene aproximadamente 9.3 % de proteínas, 63.5 % de hidratos de carbono y 3 % de grasas.

### RESULTADOS

*Animales normales.* — Los valores normales del hígado y del riñón figuran en la tabla. No se mencionan datos de testículo,

corazón, páncreas y sangre, porque ni el tiouracilo ni la diabetes los modificaron significativamente. Los datos de músculo no serán considerados en este trabajo.

*Diabetes aloxánica.* — Este agente diabetógeno se administró en un lote de animales por vía endovenosa (80 mg/kg) o por vía intraperitoneal (200 mg/kg), efectuando el dosaje de sulfhidrilos dentro de las 24 horas siguientes. En un segundo caso y con la misma dosis endovenosa, la determinación se efectuó 48 horas después. Finalmente en un tercer grupo inyectado con 200 mg/kg por vía intraperitoneal y con glucemias superiores a 4%, el dosaje se efectuó 19 días después.

Como se ve en la tabla, dentro de las 24 horas no hubo modificaciones significativas en los sulfhidrilos de hígado y riñón, pero descendieron mucho a las 48 horas y a los 19 días de evolución de la diabetes aloxánica.

*Diabetes por pancreatectomía.* — Las determinaciones se realizaron en ratas diabéticas por pancreatectomía subtotal (extirpación del 95 % de la masa pancreática) 4 a 6 meses después de la operación y en diabéticas por pancreatectomía total 24 a 48 horas después de la operación.

Tal como se ve en la tabla, en la diabetes por pancreatectomía parcial hubo descenso en los sulfhidrilos del hígado y del riñón, pero la diferencia con respecto a los animales normales es bien significativa para el riñón y no lo es en cambio, en el caso del hígado. En la diabetes por pancreatectomía total el descenso en ambos casos tiene amplia significación estadística.

*Normales tratados con tiouracilo.* — Esta sustancia se administró por boca en dosis de 250 a 300 mg/kg/día, en una sola toma. Como se ve en la tabla, a las 24 horas hubo un aumento de SH, que estadísticamente no es completamente significativa. A los 20-30 días, en cambio, hay un aumento neto de SH en hígado y riñón que fué máximo 30 horas después de la última toma, se mantiene aún 52 horas después, pero vuelve a lo normal a las 98 horas de haberlo administrado por última vez.

*Tratadas con tiouracilo y aloxano.* — Como se ve en la tabla, en este grupo de animales el dosaje de sulfhidrilos dió valores que

fueron menores que en el caso de los animales tratados con tiouracilo sólo pero superiores a aquellos que recibieron solamente aloxano.

T A B L A

*Contenido en SH, expresados como glutation (reducido) en hígado y riñón de ratas blancas, machos, tratadas con tiouracilo y en diabéticas por aloxano y por pancreatctomía subtotal (95 %) y total*

<i>Tratamiento</i>	<i>Nº de ratas usadas</i>	<i>Hígado T M mg %</i>	<i>σM (*)</i>	<i>Riñón T M mg %</i>	<i>σM (*)</i>
Normales .....	31	173.52	5.79	71.49	2.6
Pprs. 95 % diabéticas — 4 a 6 meses de evolución	17	161.00	6.3	55.90	3.6
Pprs. totales — 24 a 48 horas .....	9	137.30	6.4	48.54	4.01
Diabéticas permanentes con aloxano — 19 días de evolución .....	4	90.62	—	40.00	—
Aloxano — 0 a 24 horas	11	152.70	10.4	69.50	6.4
Aloxano 48 horas .....	13	47.20	6.3	34.44	6.4
Tiouracilo un día .....	10	229.00	19.3	81.00	5.3
Tiouracilo 20 a 30 días ..	13	278.75	22.5	97.00	4.4
Tiouracilo 30 días, sus- pendido 30 a 52 horas ..	6	242.00	16.4	90.80	8.5
Tiouracilo 30 días, sus- pendido 98 horas .....	4	185.00	—	78.50	—
Tiouracilo 30 días, Alo- xano 48 horas .....	7	123.57	18.1	58.57	10.1

(\*) La desviación cuadrática media δM se calcula por la fórmula

$$\sigma M = \sqrt{\frac{\sum d^2}{(n-1)(n-1)}}$$

y la significación de las diferencias por

$$\frac{TM - TM_1}{\sqrt{\sigma M^2 + \sigma M_1^2}}$$

siendo T M' y T M² los términos medios de las series consideradas.

## DISCUSIÓN

De los diversos órganos estudiados sólo el hígado y el riñón han dado modificaciones de los SH en algunas de las series analizadas con respecto a los animales normales. Por esta razón circunscribimos la discusión a estos dos órganos.

En las ratas inyectadas con aloxano no se constató disminución o fué insignificante en las primeras 24 horas, lo que confirma los resultados de De Caro y Rovida (1937) y de Bruckmann y Wertheimer (1947). En cambio, a las 48 horas de haber inyectado la misma dosis de aloxano que provoca una diabetes grave, los compuestos SH están muy disminuídos en hígado y riñón. Esta tardía disminución parece indicar una influencia de la diabetes sobre los SH tisulares, que se confirmó en las ratas diabéticas permanentes por aloxano (19 días de evolución) y en las pancreatoprivas parciales y totales.

La administración de tiouracilo aumenta considerablemente el tenor de sulfhidrilos, pero lentamente y cuando se administra durante cierto tiempo, que en nuestros experimentos fué de 20 a 30 días. Este aumento persiste hasta 4 días después de suspendido el tratamiento.

Es posible que este ascenso de SH en hígado y riñón de las ratas tratadas con tiouracilo esté vinculada a la mayor resistencia de estos animales al aloxano. Es conocido, en efecto, que el glutatión sanguíneo baja escasos minutos después de inyectado el aloxano (Leech y Bailey, 1945, y Bruckmann y Wetheimer, 1947). Por otra parte Lazarow (1946), ha demostrado que la inyección de cisteína, glutatión y ácido tioglicólico inmediatamente antes de inyectado el aloxano, previene la aparición de la diabetes. La diferencia entre el efecto inmediato y transitorio del glutatión, cisteína y ácido tioglicólico y el efecto tardío del tiouracilo descrito por uno de nosotros (Martínez, 1945), residiría en que el aumento de SH producido por el tiouracilo requiere una administración prolongada y sería más persistente que los provocados por el primer grupo de sustancias. Con el tiouracilo la neutralización se efectuaría en los tejidos en lugar de tener lugar en la sangre circulante.

Además es interesante consignar que la acción protectora del tiouracilo sobre la diabetes por pancreatometomía subtotal (Martínez, 1946), coincide con un aumento en los SH de hígado y riñón. Sin embargo aún no sabemos si la acción del tiouracilo se debe únicamente a ese factor o a las demás modificaciones fisiológicas que produce.

Nada podemos decir por el momento con respecto a la naturaleza del compuesto sulfhidrílico que aumenta a consecuencia del tratamiento con tiouracilo, si se exceptúa el hecho de que este compuesto no da la reacción del nitroprusiato, y que puesto en incubación con papilla de hígado, no se comprobó modificación en la cantidad de SH con respecto a experimentos testigo.

Finalmente deseamos consignar que la disminución de SH en la diabetes grave podría tener importancia como factor de gravedad de la enfermedad; su ascenso por el tiouracilo podría ser, en cambio, una de las causas de la mejoría de los diabéticos tratados con sulfhidrilos.

#### RESUMEN

Se investigó el contenido de SH en hígado y riñón de la rata blanca, macho, normal, tratadas con tiouracilo y en diabéticas por aloxano y por pancreatometomía. Los resultados fueron:

a) El tiouracilo administrado durante 20 a 30 días hizo aumentar significativamente los SH en los tejidos mencionados y este efecto persistió hasta 52 horas después de haber suspendido su administración.

b) En lo tratados con aloxano hubo un marcado descenso de los sulfhidrilos 48 horas y 19 días después de su administración. En cambio no hubo variaciones significativas si el dosaje se efectúa dentro de las 24 horas siguientes.

c) En la diabetes por pancreatometomía subtotal (95 %) se observó disminución de los SH, especialmente en el riñón, y en la diabetes por pancreatometomía total la disminución tuvo lugar en ambos órganos.

d) Se hacen consideraciones acerca del posible papel del contenido de SH en los tejidos en relación con la diabetes y a la protección ejercida frente a ella por la administración de tiouracilo.

## SUMMARY

The sulfhydryl content in the liver and in the kidney of white male rats in the following conditions have been investigated:

a) Treated with thiouracil; b) Diabetic due to alloxan treatment or pancreatectomy and; c) Normal controls.

The results were as follows:

1. Thiouracil administration during 20 to 30 days increased the SH content in both the liver and the kidney.

2. In alloxan diabetes there was a decrease in SH content 2 and 19 days after the injection of alloxan.

3. Subtotal pancreatectomized diabetic rats showed a decrease in SH content of the kidney, but in diabetic rats due to total pancreatectomy the SH content diminished both in the liver and the kidney.

---

Deseamos consignar nuestro reconocimiento a la casa Squibb and Sons, que nos facilitó el tiouracilo empleado en nuestros experimentos, y a la señorita María Angélica Barderi por su eficaz ayuda técnica.

## BIBLIOGRAFIA

*Bruckmann G., Wertheimer E.:* J. Biol. Chem., 1947, 168, 241. — *De Caro L., Rovida F.:* Boll. Soc. Ital. Biol. Sperim., 1937, 12, 611. — *Fujita A., Numata I.:* Biochem. Z., 1938, 300, 246. — *Lazarow A.:* Proc. Soc. exp. Biol., N. Y., 1946, 61, 441. — *Leaf G., Neuberger A.:* Biochem. J., 1947, 41, 280. — *Leech R. S., Bailey C. C.:* J. Biol. Chem., 1945, 157, 525. — *Martinez C.:* Rev. Soc. Argent. Biol., 1945, 21, 332. — *Martinez C.:* Rev. Soc. Argent. Biol., 1946, 22, 135.

