

## **DIABETES HIPOFISARIA EN PERROS SIN SUPRARRENALES**

B. A. HOUSSAY, V. G. FOGLIA y CHRISTIANE DOSNE DE PASQUALINI

(Instituto de Fisiología de la Facultad de Ciencias Médicas  
de Buenos Aires)

La acción diabetógena de la pars distalis de la hipófisis ha sido comprobada en el sapo hipofisoprivo-pancreatoprivo en ausencia de las suprarrenales (Houssay y Biasotti, 1933-36; Houssay y Leloir, 1935). Ha sido obtenida por Houssay y Biasotti (1938) en perros privados primero de la suprarrenal derecha, luego del páncreas dejando sólo 4 g y por fin de la suprarrenal izquierda; en esas condiciones se les mantuvo con extracto corticosuprarrenal, a dosis no diabetógenas, y luego se les inyectó extracto ánterohipofisario que provocó la hiperglucemia diabética en 3 sobre 4 perros. Para descartar la posible acción sinérgica del extracto córticoadrenal se realizaron los experimentos descritos en este trabajo, los que han permitido demostrar que el extracto ánterohipofisario produce la acción diabetógena en perros sin suprarrenales, ya sea inyectados con desoxicorticosterona, que no es hiperglucemiante, o bien mantenidos en vida con sólo cloruro de sodio. Estos experimentos fueron realizados en 1940-41-42 y no fueron publicados en detalle, aunque han sido mencionadas sus conclusiones (Houssay, 1942).

### PLAN Y TÉCNICAS

Para demostrar la acción diabetógena del extracto ánterohipofisario hay que evitar la acción tóxica mortal que produce en los perros suprarrenoprivos cuando se inyecta en dosis elevadas. Esto se consigue reduciendo la masa pancreática a unos 3 a 4 g, en

perros de unos 10 kilogramos, o sea dejando sólo un quinto a un séptimo del páncreas. Con el páncreas así reducido se obtiene la acción diabetógena con 20 a 80 mg de ánterohipófisis por kilogramo de peso y día, mientras que con el páncreas entero se necesitan de 1 a 1,5 g/kg/día o sea dosis entre 25 y 75 veces más grandes.

Las operaciones fueron hechas con asepsia, bajo anestesia etérea y con intervalos de 20 a 60 días entre ellas, en animales bien cicatrizados y en buen estado. Se operó generalmente primero la tiroides, practicando la tiroidectomía bilateral total y dejando las paratiroides; a veces se debió injertar la paratiroides en el músculo, cuando no pudieron respetarse sus vasos. Después se extirparon el páncreas (dejando 3 a 4 gramos) y la suprarrenal derecha, invirtiéndose a veces ese orden. En esos animales se comprobó la sensibilidad al extracto ánterohipofisario, provocando una diabetes hipofisaria pasajera.

Vuelta la glucemia al nivel normal se extirpó la suprarrenal izquierda. En los días siguientes se inyectó acetato de desoxicorticosterona, en solución aceitosa y vía subcutánea, a razón de 10 mg por día en dos dosis; al cabo de pocos días se bajó la dosis a 8 ó 5 mg/kg/día. Durante ese tratamiento se repitieron las inyecciones ánterohipofisarias hasta provocar la diabetes. Desde ese momento se interrumpió la desoxicorticosterona y se mantuvo el animal en vida por medio del cloruro de sodio.

Los perros con extirpación bilateral de las suprarrenales fueron tratados de la manera siguiente:

1º) A las 9 de la mañana se dió con sonda 200 cm<sup>3</sup> de leche, 10 g de azúcar y 5 g de cloruro de sodio; por vía subcutánea 300 cm<sup>3</sup> de solución de cloruro de sodio al 8‰ y 5 mg de acetato de desoxicorticosterona (en solución en aceite). 2º) A las 14 comieron 400 g de carne bovina cruda, 50 g de pan, 10 g de azúcar y 250 cm<sup>3</sup> de leche. 3º) A las 17 recibieron por vía subcutánea 300 cm<sup>3</sup> de solución de cloruro de sodio al 8‰ y 5 mg de acetato de desoxicorticosterona. A los pocos días se interrumpió la desoxicorticosterona, manteniéndose el resto del tratamiento.

En los perros suprarrenoprivos cuando estaban mantenidos en vida sólo con cloruro de sodio y sin recibir ya hormonas suprarrenales se buscó de nuevo la acción diabetógena de las inyecciones de extracto ánterohipofisario.

El extracto se preparó con lóbulos anteriores de hipófisis bovina, enfriados en seguida de extraer la glándula del animal, disecados sobre hielo y preparando y conservando el extracto alcalino de ánterohipófisis cerca de 0°. El extracto era al 20 %. Se inyectaba cada mañana en el peritoneo, en ayunas, a dosis en general de 1 cm<sup>3</sup>/kg/día, durante pocos días, hasta obtener la acción diabética. Si no aparecía, se duplicaba la dosis a los 4 a 5 días.

Las glucemias se determinaron todos los días, por el método de Hagedorn y Jensen, obteniéndose la sangre de una pequeña incisión del borde de la oreja. Los animales se mantenían a régimen cárneo. Se buscaba la glucosuria y en muchos casos se valoraron la glucosa y los cuerpos cetónicos de la orina.

Se emplearon perros entre 8,2 a 9,2 kg, la mayor parte entre 9 y 10,5 kg (término medio total 9,58 kg). Predominaban los machos. Al final de los experimentos se comprobó en todos los casos que no había restos de suprarrenales ni accesorios visibles. El peritoneo era liso, libre y brillante. El páncreas restante aparecía un poco agrandado y se examinó histológicamente en todos los casos interesantes, con la técnica de Mallory-Azan.

## RESULTADOS

Se descartan 6 perros muertos uno a dos días después de la segunda suprarrenalectomía y en los que no pudo estudiarse la acción diabética.

*Perros con páncreas reducido y sin suprarrenal derecha.* — En 14 de estos perros, cuando existía aún la suprarrenal izquierda, la inyección de extracto ánterohipofisario durante 4 a 5 días produjo hiperglucemias diabéticas superiores a 1,5‰, que en general apareció a los 2-3 días. En 8 que eran tiroprivos las glucemias máximas fueron por litro: 1.89, 2.08, 2.37, 2.47, 2.49, 2.50, 2.61, 2.83; en 6 que tenían sus tiroides la glucemias máximas por litro llegaron a: 1.72, 1.89, 1.92, 1.97, 2.02, 2.20, 2.48.

*Perros con páncreas reducido y sin las dos suprarrenales, tratados con desoxicorticosterona.* — En 6 perros durante el tratamiento con desoxicorticosterona el extracto ánterohipofisario produjo diabetes en 2 a 5 días, en un caso en 10 días (tabla 1). Dos de estos animales (S 4 y S 4) tenían sus tiroides, los cuatro restantes eran tiroprivos.

TABLA I

*Diabetes hipofisaria en perros sin las dos suprarrenales y con páncreas reducido a unos 4 g, tratados con acetato de desoxicorticosterona*

| <i>Perro</i> | <i>Peso</i> | <i>Desoxicorticosterona mg/día</i> | <i>Lóbulo anterior de hipófisis al 20 % cc/día</i> | <i>Glucemia inicial g %</i> | <i>Glucemia alcanzada g %</i> | <i>Glucemia máxima a los días:</i> |
|--------------|-------------|------------------------------------|--|-----------------------------|-------------------------------|------------------------------------|
| S4           | 12,5        | 10                                 | 10   | 0,94                        | 1,76                          | 3                                  |
| S5           | 10,5        | 10                                 | 10   | 1,08                        | 2,43                          | 2                                  |
| T1           | 9,5         | 5 (1)                              | 22   | 0,85                        | 1,40                          | 2                                  |
| T4           | 8,5         | 10 (2)                             | 10   | 0,89                        | 1,94                          | 2                                  |
| T11          | 8,2         | 10                                 | 10 a 20  | 0,96                        | 1,56                          | 10                                 |
| T13          | 9,5         | 10                                 | 8,5  | 1,03                        | 2,30                          | 5                                  |

(1) Al perro T4 se le implantó 75 mg de desoxicorticosterona bajo la piel.

(2) Tuvo imposibilidad de alzar la cabeza desde los 6 a los 9 días después de la operación.

En cuatro perros inyectados con extracto ánterohipofisario, durante el tratamiento con desoxicorticosterona, no se obtuvo acción diabétogena, pues no hubo ascenso de la glucemia o fué muy escaso.

*Perros con páncreas reducido y sin las dos suprarrenales tratados solamente con cloruro de sodio.* — En cuatro animales, el extracto ánterohipofisario produjo diabetes antes de extirpar la suprarrenal izquierda y volvió a producirla después de su extirpación (figs. 1 a 4). Dos eran tiroprivos (T 6 y T 13) y dos no (S 4 y S 8). El extracto ánterohipofisario produjo diabetes en dos perros durante el tratamiento con desoxicorticosterona y en otro durante el tratamiento con un extracto total de corteza suprarrenal.

Más tarde, estando los animales mantenidos en vida con cloruro de sodio y sin recibir hormonas corticoadrenales, la inyección de ánterohipófisis produjo hiperglucemias diabéticas en los cuatro perros; en uno se obtuvo dos veces (perro T 13).

Los protocolos detallados de estos cuatro perros son los siguientes:

Al perro S 4, de 12,5 kg de peso, se le extirpó la suprarrenal derecha (26-VIII-1942) y el páncreas salvo 4 g (24-IX-1942). Tuvo diabetes pasajera neta con 3 inyecciones peritoneales de extracto de lóbulo anterior de hipófisis de buey fresca 10 cm<sup>3</sup> al 20 % por día). Se extirpó la suprarrenal izquierda y trató con cloruro de sodio desde entonces (10 g por boca y 500 cm<sup>3</sup> de sol. al 8 % subcutánea por día). Recibió desoxicorticosterona (2 días 10 mg y 3 días 5 mg) y luego se interrumpió definitivamente. Durante este tratamiento recibió lóbulo anterior (10 cm<sup>3</sup> día, durante 4 días) y hubo diabetes pasajera. Después de un día se

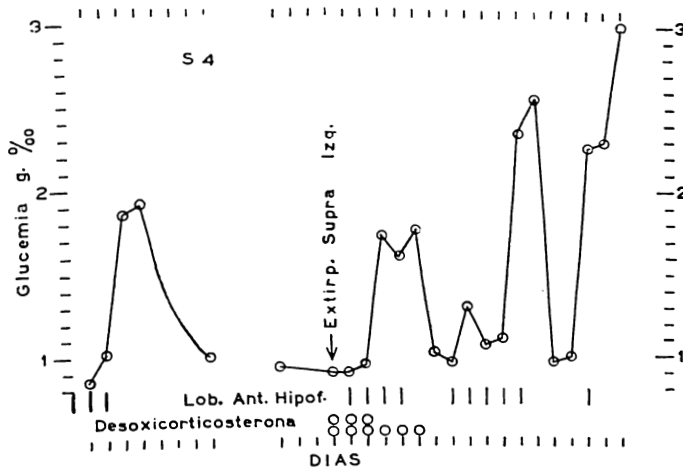


GRÁFICO 1

Diabetes hipofisaria del perro S4: a) con una suprarrenal; b) sin las dos suprarrenales y tratado con desoxicorticosterona; c) sin las dos suprarrenales y mantenido con solo cloruro de sodio

reanudaron las inyecciones de ánterohipófisis que se dieron 5 días y hubo diabetes sin recibir desovicorticosterona. Después de interrumpirlas 3 días se volvieron a dar dos días las inyecciones de ánterohipófisis que produjeron una diabetes intensa. En la autopsia no había suprarrenal, las células  $\beta$  de los islotes estaban en buen estado.

Al perro S 8 (gráfico 2), de 9 kg de peso se le extrajo el páncreas menos 4 g (4-IX-1941) y luego la suprarrenal derecha (10-X-1941). Inyectándole extracto de lóbulo anterior de hipófisis bovina fresca (8 cm<sup>3</sup> por día, al 20 %, en el peritoneo) durante

3 días, se obtuvo una diabetes intensa y pasajera. A los 6 días recibió una inyección y tuvo diabetes 3 días y la glucemia se normalizó. Dos días después se extrajo la suprarrenal izquierda (17-XI-1941) y se trató con desoxicorticosterona (5 mg el día de la operación y luego 10 mg en dos dosis durante 14 días) durante 15 días y luego se suspendió definitivamente. Desde la operación recibió cada día: 10 g de cloruro de sodio por boca, 100 cm<sup>3</sup> de leche, 500 cm<sup>3</sup> de sol. de cloruro sódico subcutánea por día. Al día siguiente de la operación recibió diariamente ánterohipófisis durante 14 días (5 días 7 cm<sup>3</sup>/día, 2 días 15 cm<sup>3</sup>/día, 2 días 20 cm<sup>3</sup>/día,

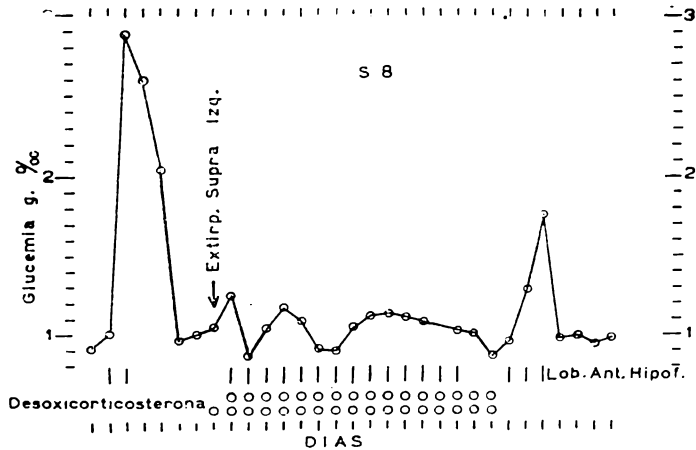


GRÁFICO 2

Diabetes hipofisaria del perro S8: a) con una suprarrenal; b) sin las dos suprarrenales y tratado con desoxicorticosterona; c) sin las dos suprarrenales y mantenido con solo cloruro de sodio

1 día 25 cm<sup>3</sup> y 4 días 30 cm<sup>3</sup>/día del extracto); el ascenso glucémico fué escaso. Suspendida la desoxicorticosterona, a las 48 horas comienza a recibir ánterohipófisis (20 cm<sup>3</sup>/día, por 3 días), observándose un fuerte aumento glucémico con vuelta al nivel normal. A los 3 días se inyecta ánterohipófisis (30 cm<sup>3</sup>) y al rato flaquean las patas, se acuesta, se debilita rápidamente y muere; parece un "shock" agudo. En la autopsia el peritoneo es normal, dilatación de las vénulas del mesenterio e intestino, no hay restos de suprarrenales ni accesorias, el resto del páncreas pesa 7,7 g, las células  $\beta$  son escasas, desgranuladas o vacuoladas.

Al perro T 13 (gráf. 3) se le extirparon las tiroides dejando las paratiroides (16-V-1943), luego el páncreas menos unos 4 g (2-VI-1942) y la suprarrenal derecha (22-VI-1942). Del 13 al 16 de julio se le inyecta ánterohipófisis (8,5 cm<sup>3</sup>/día, al 30 %), obteniéndose una diabetes intensa y pasajera. El 3 de agosto se extrae la suprarrenal izquierda y se administra desoxicorticosterona 7 días (1 día 10 mg, 4 días 8 mg, 2 días 5 mg) y desde entonces se suspendió definitivamente. Desde la operación recibió diariamente cloruro de sodio (10 g por boca y día y subcutánea 500 cm<sup>3</sup> de solución al 8 %). En los primeros 3 días siguientes recibió extracto de ánterohipófisis fresca (10,10 y 15 cm<sup>3</sup>/día) y tuvo diabetes.

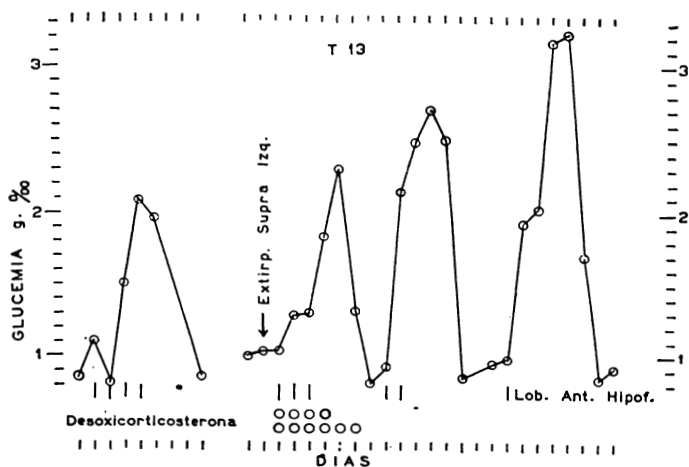


GRÁFICO 3

Diabetes hipofisaria de lperro T13 tiroprivo: a) con una suprarrenal; b) sin las dos suprarrenales y tratado con desoxicorticosterona; c) por dos veces, sin las dos suprarrenales y mantenido con solo cloruro de sodio

Después de interrumpirlo cuatro días se inyectó de nuevo 2 días (15 cm<sup>3</sup>/día), no recibiendo ya desoxicorticosterona, observándose una intensa diabetes pasajera, eliminando 0,9 g/kg de glucosa urinaria. Después de 6 días se inyectó ánterohipófisis 1 solo día y produjo una intensa reacción diabética, llegando la hiperglucemia a 3,23 % y la glucosuria a 1,3 g/día; luego la glucemia se normalizó y desapareció la glucosuria. La muerte se produjo a los 29 días de la operación, no hallándose restos suprarrenales ni accesorias; los islotes de Langerhans de tamaño normal con sus células  $\alpha$  y  $\beta$  normales y con sus gránulos específicos.

Al perro T 6 (gráfico 4) de 9 kg de peso, se le extrajo la tiroides (22-XI-1941), el páncreas salvo 4 g (11-XII-1941) y la suprarrenal derecha (12-II-1942). El 24 y 25 de febrero recibe ánterohipófisis bovina fresca (10 cm<sup>3</sup>/día, vía peritoneal, al 20 %) produciéndose una diabetes intensa y pasajera. El 10 de marzo se extrae la suprarrenal izquierda y en los 5 días siguientes se le inyecta desoxicorticosterona (5 mg/día en dos veces). Desde la operación recibe cloruro de sodio (10 g por boca y 700 cm<sup>3</sup> subcutáneos de solución al 8 %) hasta 3 días antes de la muerte. Desde los 5 días después de la operación se inyecta ánterohipófisis (6 días

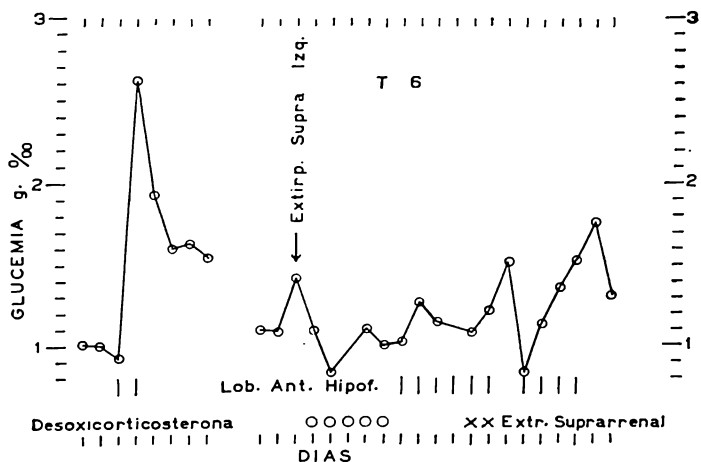


GRÁFICO 4

Diabetes hipofisaria del perro T6, tiroprivo: a) con una suprarrenal; b) sin las dos suprarrenales y tratado con desoxicorticosterona y luego con extracto corticosuprarrenal; c) sin las dos suprarrenales y mantenido solo con cloruro de sodio

11 cm<sup>3</sup>/día). Al sexto y séptimo día recibe extracto suprarrenal (1 cm<sup>3</sup> = 75 g de glándula fresca) y entonces se produce hiperglucemia hasta 1,52 %. Se practican inyecciones de ánterohipófisis (22 cm<sup>3</sup>/día, 4 días) sin extracto suprarrenal y la glucemia sube de 0,83 a 1,76 % y aparece glucosuria. Vuelve a normalizarse la glucemia, se suspende el cloruro de sodio y el animal muere de insuficiencia suprarrenal tres días más tarde. En la autopsia no hay restos de suprarrenales ni accesorias visibles, peritoneo liso, ganglios un poco aumentados; la mayor parte de las células  $\beta$  tienen granulaciones, algunas agrandadas y desgranuladas.



*Perros sin suprarrenales y sin páncreas.* — A cuatro perros y un gato se extirpó totalmente el páncreas y las dos suprarrenales. Primero se extirpó la suprarrenal derecha, luego el páncreas entero y desde ese momento se trataron con insulina (1 a 2 unidades kg/día) hasta extirpar la suprarrenal izquierda. Desde ese momento cesaron las inyecciones de insulina y se administró desoxicorticosterona y cloruro de sodio. Desde el día siguiente o desde las 48 horas de la operación se inyectó el extracto ánterohipofisario (1cm<sup>3</sup>/kg/día, al 20 ‰), vía peritoneal. A pesar del tratamiento ánterohipofisario la glucemia bajó: de 2,64 ‰ a 1,09 ‰ en 4 días en el gato; y en los tres perros: de 1,88 ‰ a 0,97 ‰ en 2 días, de 2,75 ‰ a 0,94 ‰ en 4 días, de 3,42 ‰ a 1,47 ‰ en 4 días; sólo en uno se mantuvo la glucemia en 2,10 cm‰ durante 3 días. Todos los animales murieron al cabo de esos plazos.

*Acción de hormonas corticoadrenales en perros con páncreas reducido.* — En los experimentos de Houssay y Biasotti (1938), dosis altas de extracto corticosuprarrenal (10 cm<sup>3</sup>/día, cada

TABLA 2

*Perros sin hipófisis y con sólo un resto de páncreas de aproximadamente 4 g. Se inyectaron por vía intraperitoneal, 2 veces diarias durante 4 días, con CORTICOSTERONA o bien con DESOXICORTICOSTERONA*

CORTICOSTERONA

| Nº de orden | Peso Kg | Días de inyec. | Mg por Kg y día | Total en 4 días Mg. | Glucemias g ‰ al cabo de días |      |      |      |      |
|-------------|---------|----------------|-----------------|---------------------|-------------------------------|------|------|------|------|
|             |         |                |                 |                     | 0                             | 1    | 2    | 3    | 4    |
| 577         | 10,5    | 4              | 1,42            | 60                  | 0,87                          | 0,88 | 0,95 | 0,91 | 1,03 |
| 627         | 7,5     | 4              | 1,33            | 40                  | 0,73                          | 0,90 | 0,83 | 0,88 | 0,82 |
| 610         | 7,5     | 4              | 1               | 30                  | 0,99                          | 0,79 | 0,94 | 0,93 | 0,79 |

DESOXICORTICOSTERONA

|     |      |   |      |     |      |      |      |      |      |
|-----|------|---|------|-----|------|------|------|------|------|
| 577 | 10,5 | 4 | 1,90 | 80  | 0,95 | 0,96 | 0,85 | 0,93 | 0,87 |
| 607 | 10   | 4 | 5,00 | 200 | 0,74 | 0,88 | 0,99 | 0,77 | 0,86 |

Los perros dieron reacciones diabéticas inyectándoles anterohipófisis fresca bovina: el 577 y el 607 con 40 mg/kg/día; el 610 y el 627 con 20 mg/kg/día, inyectada 4 días por vía peritoneal.

cm<sup>3</sup> = 40 g suprarrenal) no elevaron la glucemia de perros con páncreas reducido y sin suprarrenales. La inyección de corticosterona (30 a 60 mg en 4 días) y de desoxicorticosterona (80 a 200 mg en 4 días) no modificó la glucemia de perros hipofisoprivos con páncreas reducido (tabla 2) que eran muy sensibles a la ánterohipófisis.

#### DISCUSION

La acción diabetógena de la ánterohipófisis en ausencia de las suprarrenales, ha sido demostrada en: a) sapos privados de las suprarrenales y el páncreas (Houssay y Biasotti, 1936); b) sapos privados a la vez de la hipófisis, el páncreas y el riñón con las suprarrenales (Houssay y Biasotti, 1933); c) privados de la hipófisis y el páncreas y con las suprarrenales destruidas (Houssay y Biasotti, 1933 y 1936; Houssay y Leloir, 1935); d) perros con páncreas reducido sin suprarrenales y mantenidos con extracto córticosuprarrenal (Houssay y Biasotti, 1938); e) perros con páncreas reducido, sin suprarrenales y tratados con desoxicorticosterona (este trabajo); f) perros con páncreas reducido, sin suprarrenales, mantenido con sólo cloruro de sodio y sin recibir hormonas córticoadrenales.

Estos experimentos demuestran que el extracto ánterohipofisario produjo acción diabetógena, en perros sin suprarrenales. Esta acción diabetógena es primero extrapancreática y luego pancreática.

El extracto ánterohipofisario ejerce su acción: a) por acción sobre los tejidos periféricos y disminuyendo su sensibilidad a la insulina; b) por acción sobre los islotes y disminución de insulina; c) aumentando la secreción suprarrenal; d) aumentando la secreción tiroidea. Estas dos últimas acciones no son esenciales, puesto que se obtuvo la acción diabetógena en perros sin suprarrenales y sin tiroides mantenidos con cloruro de sodio. Esto no significa que las hormonas segregadas por estas glándulas no tengan habitualmente un papel coadyuvante más o menos importante en la producción de la acción diabetógena provocada por la ánterohipófisis.

Para la demostración de la acción diabetógena hipofisaria en ausencia de las suprarrenales se emplearon perros con páncreas

reducido, porque en ellos se puede obtener la acción diabetógena con dosis bajas de ánterohipófisis y así se evita la acción tóxica que las altas dosis provocan en el perro suprarrenoprivo, tan propenso al "shock".

En los primeros días se inyectaron los animales con desoxicorticosterona, que eleva la vida y no eleva la glucemia. Mientras se daba esta substancia hubo menor acción ánterohipofisaria (perros S 4 y T 13) o bien no se observó (S 8 y T 6); o esta substancia inhibió la acción hipofisaria y los perros se volvieron paulatinamente más sensibles a ella. Luego se suspendió esta sustancia y en esos perros mantenidos sólo con cloruro de sodio, el extracto ánterohipofisario produjo reacciones diabéticas.

#### CONCLUSIONES

1º) En perros con páncreas reducido, la inyección de extracto ánterohipofisario produjo diabetes hipofisaria; a) en 14 suprarrenoprivos unilaterales; b) en 6 suprarrenoprivos totales mantenidos con desoxicorticosterona; c) en 4 suprarrenoprivos bilaterales y mantenidos sólo con cloruro de sodio. Muchos de estos perros eran tiroprivos.

2º) La diabetes hipofisaria puede obtenerse en ausencia de las suprarrenales y tiroides.

#### CONCLUSIONS

1) In dogs with a partial pancreatectomy, the injection of anterior hypophyseal extract produced hypophyseal diabetes: a) in 14 animals with unilateral adrenalectomy; b) in 6 animals with total adrenalectomy kept alive with desoxicorticosterone; c) in 4 animals with total adrenalectomy kept alive with NaCl only. Many of these dogs were also thyroidectomized.

2) Hypophyseal diabetes can occur in adrenalectomized and thyroidectomized animals.

Agradecemos las generosas donaciones de: desoxicorticosterona (Casa Ciba), extractos de corteza suprarrenal (Dr. Kendall, Casa Upjohn) y córticosterona (Dr. Kendall).

BIBLIOGRAFIA

*Houssay, B. A.*: Endocrinology, 1942, 30, 884. — *Houssay, B. A., Biasotti, A.*: Rev. Soc. Argent. Biol., 1935, 9, 29; C. R. Soc. Biol., 1933, 113, 469. — *Houssay, B. A., Biasotti, A.*: Rev. Soc. Argent. Biol., 1936, 12, 104; C. R. Soc. Biol., 1936, 123, 497. — *Houssay, B. A., Biasotti, A.*: Rev. Soc. Argent. Biol., 1938, 14, 308; C. R. Soc. Biol., 1938, 129, 1261. — *Houssay, B. A., Leloir, L. F.*: Rev. Soc. Argent. Biol., 1935, 11, 464; C. R. Soc. Biol., 1935, 120, 670.

