

ZUSAMMENFASSUNG

Die Autoren besprechen die anatomischen Verhältnisse des Schultergelenks, die das Auftreten einer fast gleichartigen Symptomatologie bei ganz verschiedenartigen, im Schultergelenk lokalisierten Prozessen erklären. Sie zählen die verschiedenen Krankheitsbilder auf, die sich durch einen Schmerz in der Schulter äussern und erwähnen die, für jeden einzelnen Fall in Frage kommende Ätiologie. Die Herde spielen bei dem Prozess keine Rolle. Dagegen sind Mikrotraumen und Ruhigstellung von Wichtigkeit. Daneben gibt es zweifelsohne noch andere, unbekannte ätiologische Faktoren.

Man muss die Periarthritis, deren Ursache sehr verschiedenartig ist, von der Bursitis, die fast immer eine Komplikation der ersteren ist, trennen. Die Symptomatologie führt in vielen Fällen zu einer Differenzierung. Man macht darauf aufmerksam, dass Kalkniederschläge im Schultergelenk klinisch oft unbeobachtet bleiben.

Eine Besprechung von 31, letztthin beobachteten Fällen zeigt die häufige Spontanheilung, die diagnostischen Schwierigkeiten und die Tatsache, dass die Symptomatologie im Schultergelenk bei älteren Leuten manchmal das erste Zeichen einer Polyarthritiden sein kann. Die verschiedenen vorgeschlagenen Behandlungsmethoden werden mitgeteilt; zum Schluss macht man auf die ausgezeichneten Ergebnisse einer frühzeitigen Regung aufmerksam.

R É S U M É

Les auteurs passent en revue les conditions anatomiques de l'épaule qui font possible l'apparition d'une symptomatologie, presque uniforme, dans des processus divers localisés dans l'épaule. On énumère les diverses maladies qui se traduisent par une douleur à l'épaule et on discute les étiologies incriminées dans chaque cas. Les focus n'ont pas de signification dans le processus. Les microtraumatismes et l'immobilisation sont importants. Sans doute il existe d'autres facteurs étiologiques encore inconnus.

Il faut faire une différence avec la périarthrite dont le substrat est divers et la bursite, presque toujours une complication du processus antérieur. La symptomatologie permet bien des fois de faire la différenciation de la structure affectée dans chaque cas. On insiste sur la fréquence avec laquelle des dépôts calcaires passent inaperçus cliniquement chez l'homme.

Revisant les 31 cas dernièrement observés, il se détache la grande fréquence de guérison spontanée, les difficultés diagnostiques qui parfois se présentent et la possibilité de que la symptomatologie de l'épaule soit, dans des cas très rares, la première manifestation d'une polyarthrite chez des personnes d'âge avancé. On étudie les différents traitements proposés pour l'affection et on indique les excellents résultats obtenus par la mobilisation précoce.

ESTUDIO PRELIMINAR DE UNA REACCIÓN APLICABLE A LA DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE INSULINA

J. SOUTO CANDEIRA

Instituto de Investigaciones Médicas. Madrid.

Director: PROF. C. JIMÉNEZ DÍAZ. Sección de Fisiología

Son muy numerosos los estudios que se han hecho acerca de los métodos biológicos para la determinación de insulina. Sobradamente conocidos son a este respecto los trabajos realizados en gran número de centros y sobre todo las laboriosas investigaciones llevadas a cabo por BANTING y BEST¹, KROGH^{2,4}, HEMMINGSEN^{3,4,5,6}, MCLEOD⁷, MARKS^{8,5}, TREVAN⁹, LAQUEUR^{10,11}, ABDERHALDEN¹², GELLHORN^{13,14} y otros muchos.

Sin embargo, en las dosificaciones biológicas de insulina los errores son siempre de consideración, cualesquiera que sean los métodos empleados. Gran número de factores intervienen en ellos; algunos como las diferencias entre los distintos animales en cuanto a edad, sexo, alimentación, tiempo de ayuno antes de las valoraciones y temperatura ambiente, han sido bien sistematizados por los autores a que antes nos hemos referido. Pero aun colocados los animales en igualdad de condiciones, existe una notable diferencia entre ellos por lo que se refiere a su sensibilidad frente a la insulina. Aquella, aumenta como es sabido con el trabajo muscular; en las valoraciones en conejos, unos días las convulsiones aumentan en frecuencia e intensidad en tanto que otros faltan por completo para la misma dosis del mismo preparado, sin que reconozcamos la causa¹⁰; los ratones son frecuentemente más sensibles a la insulina durante el día que por la noche, debido según AGREN y FORSGREN a que las variaciones cíclicas del glicógeno hepático son independientes del aporte dietético — el glicógeno se acumula en el hígado durante la noche: es entonces cuando aumenta la resistencia a la insulina; — el número de ratones en los que aparecen síntomas convulsivos, es distinto de unos días a otros para la misma dosis del mismo preparado de insulina (BEST); a veces preparados de insulina que se muestran muy activos en la prueba con conejos, son inactivos en la de ratones (SCOTT).

Cuando se trata de valorar pequeñas cantidades de insulina, como es el caso de la dosificación en la sangre y en los órganos — y aun cuando en manos de GELLHORN, FELDMAN y ALLEN^{13,14} el descenso de la glicemia en ratas hipofisectomizadas y adrenodesmeduladas, parece haber suministrado datos de interés — podemos decir que los métodos biológicos carecen de la precisión necesaria para aportar datos más concretos que los que actualmente poseemos.

Estas han sido las causas que nos han hecho buscar otros medios distintos a los hasta ahora en uso para la dosificación de insulina. Hace ya algunos años, estudió WYSS¹⁵ algunas de las propiedades de la oxidación de los fenoles por el agua oxigenada. En presencia de insulina, la oxidación es inhibida o

retardada, excepto en lo que concierne a los fenoles polivalentes que tienen el grupo hidroxilo en posición 1-2. Poco más tarde, BISCHOFF¹⁵ demuestra que el poder antioxidante de la insulina frente a los polihidroxifenoles es de diferente intensidad de unas muestras a otras en relación con su contenido en nitrógeno y que esta acción es general para las proteínas y aun para aminoácidos como la tirosina y el triptófano.

En esta comunicación nos proponemos dar a conocer nuestras experiencias con un sistema redox, formado por dioxibenzoles sobre los cuales actúan agentes oxidantes. Hemos comenzado tratando de establecer una relación cuantitativa que pudiera servirnos de base para las determinaciones de insulina. Ya desde los primeros ensayos pudimos observar que en el sistema fenol-insulina-agua oxigenada, el color formado no es inhibido en una relación constante por las mismas cantidades de insulina.

RESULTADOS

Soluciones de insulina. — En las experiencias de que más adelante se da referencia, hemos empleado insulinas de distinta procedencia. En unos casos las pruebas fueron realizadas con muestras de insulinas amorfas en polvo y de alto grado de pureza; en otros con dos muestras de insulina cristalizada: una comercial (*) y la otra obtenida por nosotros según la técnica de SCOTT, GERLOUGH y BATES^{17, 18}. Las soluciones fueron hechas disolviendo las muestras en solución salina al 8,5 por 1.000 a un pH de 2,5.

Relación entre insulina y oxidación de formas benzenoides. — En un sistema con solución etérea de hidroquinona, intentamos valorar los productos derivados de la oxidación de la forma benzenoide — semiquinona y forma quinonide — y establecer una función entre la cantidad de formas oxidadas al final de la reacción y la cifra de insulina presente. Los métodos de valoración de VALEUR^{19, 20} y los de WILLSTAETTER^{21, 22} adaptados a esta finalidad, se muestran imprecisos para apreciar las pequeñísimas variaciones de concentración de quinona que pudieran existir.

Por otra parte la valoración de las formas oxidadas empleando métodos potenciométricos, tampoco proporciona resultados satisfactorios. Esto es debido a la inestabilidad del sistema redox, en el que espontáneamente la hidroquinona se transforma en meriquinona y quinona, sin que nos encontremos con derivados puros (MICHAELIS²³) y sin que obtengamos resultados constantes.

Insulina y capacidad de combinación de los fenoles. — Han sido efectuadas pruebas con objeto de observar si la insulina actúa sobre la formación de ésteres fenólicos. A las mismas cantidades de solución de un fenol, se le añadieron diferentes de insulina y se procedió a una esterificación parcial del fenol. La relación entre fenoles libres y combinados fué establecida según la técnica de THEISS y BENEDICT^{24, 25, 26}. También aquí los resultados parecen

indicar que la insulina (al menos en las pequeñas dosis ensayadas) no interviene en el proceso de manera sensible.

La relación colorimétrica. — Un nuevo sistema distinto de los ensayados hasta ahora, nos permite obtener mejores resultados. Establecemos principalmente el de algunos dioxibenzoles, sobre los que actúa un agente oxidante. Tiene lugar así la formación de un cierto grado de color, muy variable según las condiciones. Aparte otros factores que intervie-

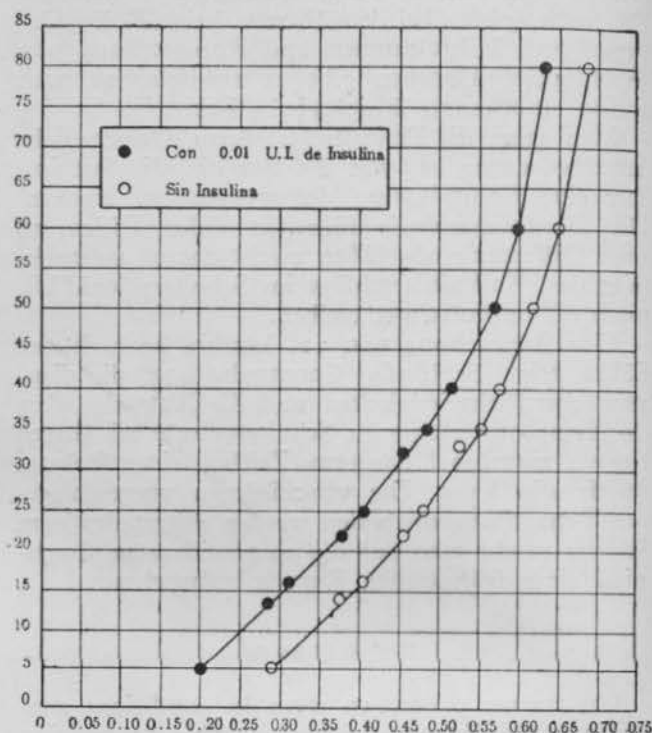


Fig. 1. — Variación con el tiempo de la intensidad de color del sistema, con y sin insulina. Filtro 540. Abscisas: coeficientes de extinción (2-log. G.). Ordenadas: minutos.

nen en la constancia de la intensidad del color y de los que más adelante nos ocuparemos, es de la mayor importancia que el pH de la reacción permanezca constante hasta el momento de la adición del oxidante. La elección de una mezcla amortiguadora apropiada, ha sido efectuada de modo que su dilución no ejerza efecto sobre la intensidad del color de la reacción.

Operando en estas condiciones, podemos apreciar por medio del colorímetro fotoeléctrico de Evelyn, que el color se hace más y más intenso en cortas fracciones de tiempo, pero que aun con la cantidad de 0,01 Unidades Internacionales de insulina, el efecto de ésta se hace claramente apreciable (fig. 1).

Debido al continuo cambio de color experimentado por el sistema, no era posible obtener con estos datos resultados concordantes. Al proceder a la estabilización del color, tratamos principalmente de conseguir su extracción por un disolvente no miscible con el agua. Encontramos que es insoluble en éter, cloroformo, tolueno y xileno; con éter de petróleo permanece también insoluble con formación de un anillo intermedio coloreado; con acetona se forma un precipitado débil. Es parcialmente soluble en los alcoholes butílicos normales primario y secundario y en el alcohol isobutílico primario, en

(*) Deseamos expresar nuestro reconocimiento al profesor R. A. MCCANCE por el envío de la muestra de insulina cristalizada.

este último con pérdida de color. Es soluble en acetato de etilo. El color extraído por este último disolvente apenas cambia con el tiempo, pero son necesarios unos 250 c. c. de acetato de etilo para 100 c. c. de líquido resultante de la reacción.

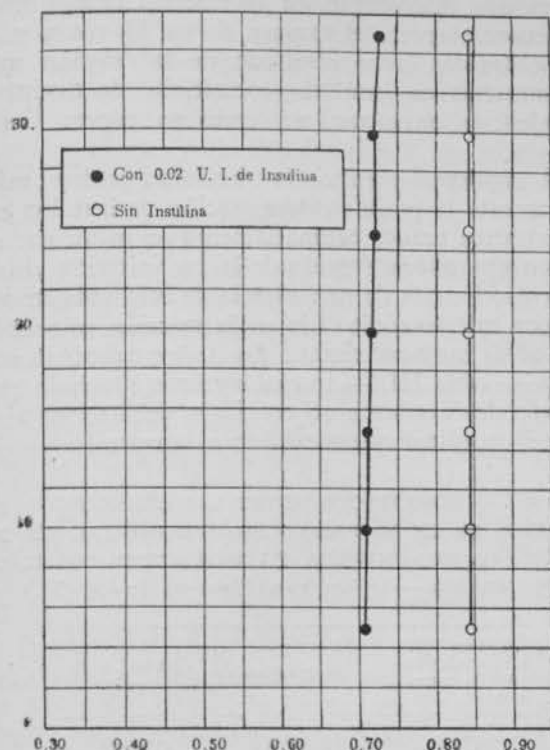


Fig. 2. — Estabilización de la intensidad de color del sistema, por sulfonación. Filtro 540. Abs. y orden., como en la figura 1.

Un color prácticamente invariable conseguimos desarrollarlo recurriendo a la formación en medio alcalino de disulfonato de difenol. Mediante este

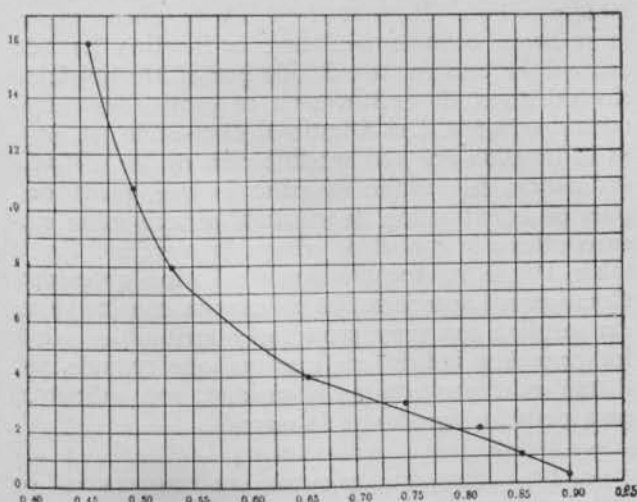


Fig. 3 — Curva obtenida con distintas concentraciones de insulina amorfa, A. Filtro 540. Abscisas: coeficientes de extinción (2-log. G.). Ordenadas: cada división = 0,01 U. I. = 0,45 γ .

artificio la oxidación de los dioxibenzoles no es completa y la naturaleza de los productos de oxidación es modificada. De esta manera la variación de color dentro de los 45 minutos siguientes a la terminación de la reacción es insignificante y muy pequeña posteriormente. El desarrollo de color en un

tiempo dado se estabiliza por sulfonación parcial de los dioxibenzoles (fig. 2). Con la introducción de esta operación, las proporciones de los reactivos que intervienen en la reacción han sido ajustadas al objeto de producir un óptimo de color en el que las diferencias de lecturas en el colorímetro fotoeléctrico sean máximas para las mínimas diferencias de

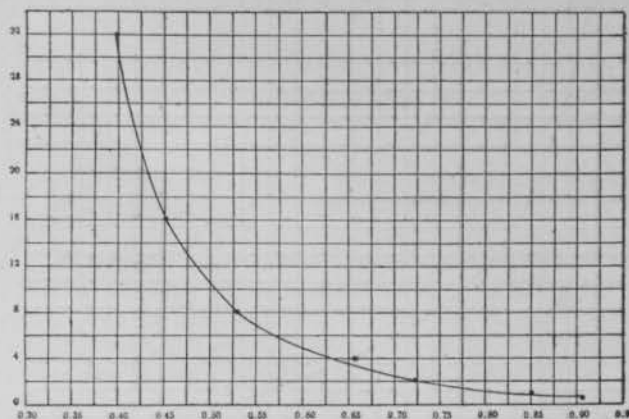


Fig. 4. — Curva con distintas concentraciones de insulina amorfa B. Filtro 540. Abscisas: coeficiente de extinción (2-log. G.). Ordenadas: cada división representa 0,02 U. I. = 0,91 γ .

insulina. Aparte las concentraciones de los distintos componentes de la reacción, este efecto está determinado por la cantidad de oxidante y es función de la cantidad de insulina que se pretende deter-

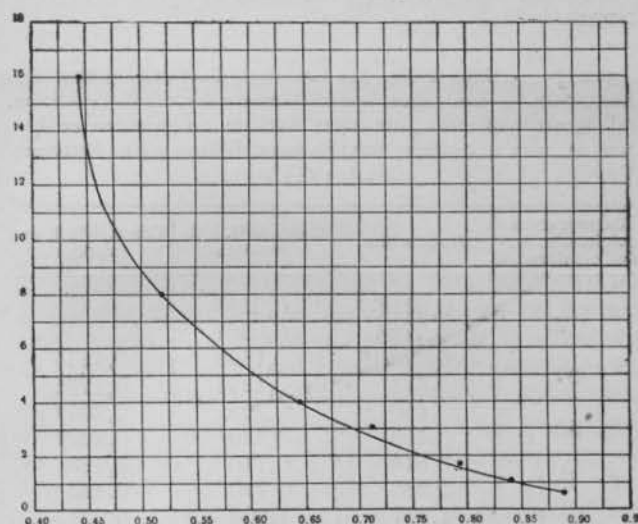


Fig. 5. — Curva con concentraciones crecientes de insulina cristalizada M. C. Filtro 540. Abscisas: coeficientes de extinción (2-log.). Ordenadas: cada división = 0,01 U. I. = 0,45 γ .

minar. Esto es, que en cada valoración y con la referencia de una titulación previa, la cantidad del agente oxidante es distinta para límites determinados. En las figuras 3, 4, 5 y 6 se muestran las curvas de concentración de distintas muestras de insulina, leída la reacción en el colorímetro fotoeléctrico de Evelyn con el filtro 540; las curvas se han extendido en estos casos para la misma concentración de oxidante. La sensibilidad del método permite apreciar cifras del orden de 0,01 unidades internacionales, o sea de 0,45 γ . Conviene advertir que la valoración biológica de estos preparados ha

proporcionado la cifra de 20 unidades internacionales por miligramo.

La temperatura tiene considerable influencia sobre la reacción. En la tabla I figuran los coeficientes de extinción (2-log. G.) en el sistema con y sin insulina a diversas temperaturas.

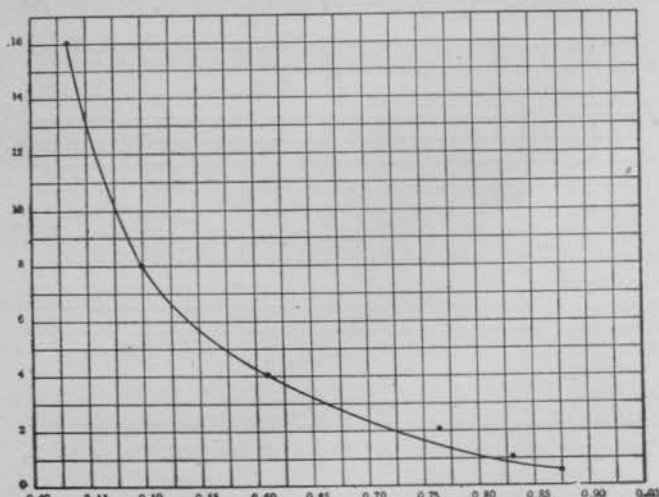


Fig. 6. — Curva con diferentes concentraciones de insulina cristalizada S. C. Filtro 540. Abs. y orden., como en la figura 5.

La intensidad de la luz parece no ejercer influencia sensible sobre la formación de color. En la tabla II, los tubos sometidos a iluminaciones distintas no presentan variaciones apreciables en sus coloraciones.

Tabla I. — INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA SOBRE LA REACCIÓN. — Los tubos, inmediatamente después de la adición del agente oxidante, permanecen durante 10 minutos en baños de agua a distintas temperaturas. (Filtro 540. Lecturas: [2-log G].)

Temperatura del baño en grados centígrados	Sin insulina	Con 0,02 U. I. de insulina	Con 0,22 U. I. de insulina
2	0,0718	0,0315	
	0,0718	0,0327	
37	0,323	0,1990	0,1235
	0,323	0,1973	0,1235
50	0,450	0,398	0,2041
	0,450	0,398	0,2024
75	0,846	0,710	0,426
	0,838	0,710	0,423
100	1,347	1,204	0,921
	1,398	1,222	0,930

Tabla II. — INFLUENCIA DE LA LUZ SOBRE LA REACCIÓN. — Antes de hacer las lecturas en el colorímetro fotoeléctrico, los tubos han sido expuestos durante 30 minutos a diferentes intensidades de luz. (Filtro 540. Lecturas: [2-log G].)

TUBOS	Sin insulina	Con 0,01 U. I. de insulina
En la obscuridad	0,846	0,782
	0,846	0,776
Débilmente iluminados	0,846	0,782
	0,846	0,782
Fuertemente iluminados	0,854	0,770
	0,846	0,782

ESPECIFICIDAD. — Ya de la comparación entre las curvas obtenidas con insulinas amorfas y las de las muestras de insulina cristalizada, parece deducirse que en las primeras — o al menos en las que nosotros hemos ensayado — no existen otras sustancias que intervengan en la reacción. La misma consecuencia aporta el examen de las figuras 3 y 4 que, obtenidas como resultado de la reacción con dos muestras de insulinas comerciales de distintas procedencias, muestran sin embargo curvas similares.

La siguiente experiencia tiende a probar más exactamente la posible determinación de insulina en los extractos usados ordinariamente en medicina: el residuo que queda después de la precipitación en el punto isoelectrico de una mezcla de insulinas amorfas, por sulfato sódico, da en la reacción colorimétrica cifras muy próximas a las de los tubos sin insulina — tabla III, — lo cual significa sin duda que los referidos extractos no contienen sustancias ajenas a la insulina, que modifiquen la reacción.

Tabla III. — COMPARACIÓN ENTRE LOS COEFICIENTES DE EXTINCIÓN DE UN PREPARADO DE INSULINA DESPUÉS DE QUE ÉSTA HA SIDO EXTRAÍDA, Y LOS OBTENIDOS CON TUBOS SIN INSULINA. — (Filtro 540. Lecturas: [2-log G].)

Residuo de los preparados después de extraída la insul. (0,005 %)	Sin insulina	Con 1 U. I. de insulina
0,509	0,520	0,2861
0,512	0,523	0,2861

En otras experiencias, un páncreas de perro, recién extirpado, fué finamente desmenuzado y extraído con alcohol-ácido clorhídrico a 37° C. durante una hora (JEPHCOTT²⁷). De la misma manera se hacen ocho extracciones; la insulina ha sido así, o bien totalmente extraída por el alcohol-ácido clorhídrico o, de existir, sería en cantidades sumamente pequeñas. Del filtrado alcohol-ácido, se separa la insulina por una modificación de los métodos ordinarios. El residuo de páncreas que queda después de la extracción de insulina, se seca sobre cloruro cálcico y con él se ensaya la reacción. En la tabla IV se representan los resultados obtenidos. Como puede apreciarse, las diferencias con los tubos sin insulina son muy pequeñas y atribuibles a que los pequeños indicios de insulina que todavía pudieran estar presentes en el residuo, son suficientes para poderlos apreciar en la reacción.

Tabla IV. — COMPARACIÓN ENTRE LOS COEFICIENTES DE EXTINCIÓN DE UN RESIDUO DE PÁNCREAS DESPUÉS DE EXTRAÍDA LA INSULINA, Y LOS OBTENIDOS CON TUBOS SIN INSULINA. — (Filtro 540. Lecturas: [2-log G].)

Residuo de páncreas después de extraída la insulina. (0,005 %)	Sin insulina	Con 1 U. I. de insulina
0,509	0,520	0,2861
0,512	0,520	0,2861

Para tener la seguridad de que estas pequeñas diferencias no son atribuibles más que a restos de insulina, hemos procedido a repetir la experiencia empleando esta vez en lugar de páncreas, muestras de estómago e hígado de buey. Estos órganos han sido tratados de manera idéntica que el páncreas al cual se le ha extraído la insulina. Obtenemos de esta manera dos fracciones: una en la que si se hubiese tratado de páncreas, estaría contenida la insulina, y otra que sería el residuo libre de insulina. La reacción con estas dos fracciones nos suministra cifras que en nada difieren de las que obtenemos en los tubos sin insulina (tabla V).

Tabla V. — COMPARACIÓN ENTRE LOS COEFICIENTES DE EXTINCIÓN OBTENIDOS TRATANDO UNA MUESTRA DE ESTÓMAGO E HÍGADO COMO EN EL CASO DEL PÁNCREAS, Y LOS DE TUBOS SIN INSULINA. — (Filtro 540. Lecturas: [2-log G].)

Estómago e hígado: equivalente a la fracción insulínica del páncreas (0,005 %)	Estómago e hígado: residuo obtenido de la operación anterior (0,005 %)	Sin insulina	Con 1 U. I. de insulina
0,520	0,516	0,520	0,2861
0,520	0,516	0,520	0,2882

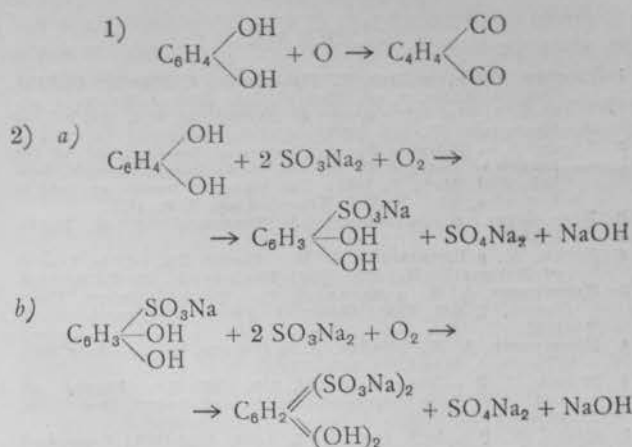
Por último, en experiencias con aminoácidos hemos podido observar que una mezcla equimolecular de leucina y ácido glutámico, no ejerce influencia alguna sobre la reacción (tabla VI). Todos los aminoácidos insolubles a un pH de 2,5, que es aquel a que nosotros hacemos las diluciones de insulina, no podrán naturalmente interferir en la reacción.

Tabla VI. — COEFICIENTES DE EXTINCIÓN DE UNA MEZCLA EQUIMOLECULAR DE LEUCINA Y ÁCIDO GLUTÁMICO, EN COMPARACIÓN CON LOS OBTENIDOS CON TUBOS SIN INSULINA. — (Filtro 540. Lecturas: [2-log G].)

Mezcla de aminoácidos (Soluciones 0,005 %)	Sin insulina	Con 1 U. I. de insulina
0,516	0,520	0,2861
0,520	0,523	0,2861

DISCUSIÓN. — STORCK²⁸ ha demostrado que el sulfito alcalino actúa frente a la hidroquinona como agente de sulfonación y que en presencia del oxígeno del aire, la transforma en disulfonato alcalino de hidroquinona. Posteriormente, otros autores al estudiar la oxidación de los reveladores orgánicos empleados en fotografía, confirman la formación a partir de hidroquinona, de monosulfonato y disulfonato alcalinos de hidroquinona, en las condiciones de STORCK.

En nuestras experiencias, en una primera fase es efectuada la oxidación completa de una parte de los dioxibenzoles; la otra es sólo parcialmente oxidada. De esta manera tendríamos como final de la reacción de color, los derivados disulfónicos de los dioxibenzoles junto a los de la oxidación total de éstos. Una hipótesis sobre el medio de transcurrir la reacción, vendría expresada de la manera siguiente:



El tiempo que ha de actuar el agente oxidante en medio alcalino ha de combinarse con la temperatura a que la reacción tenga lugar, de modo que al añadir SO_3Na_2 obtengamos un color conveniente para las lecturas en el colorímetro fotoeléctrico, es decir el máximo que pueda apreciarse con un error mínimo en las lecturas del galvanómetro.

Últimamente hemos observado que en condiciones determinadas, el color de la reacción puede ser estabilizado aún sin adición de sulfito, conservando la reacción la misma sensibilidad.

Por los datos expuestos, creemos disponer de una reacción que nos permite determinar sin dificultad la concentración de insulina de los extractos de uso corriente en medicina. El método, comparado con los biológicos, presenta las ventajas de su precisión, sensibilidad para pequeñas cantidades de insulina y facilidad de ejecución. En la actualidad, nos ocupamos del estudio de otros aspectos en relación con el método que aquí anticipamos.

RESUMEN

Se estudia la influencia de la insulina sobre los productos derivados de la oxidación de las formas bencenoides — semiquinona y quinoides. — Mediante las técnicas de VALEUR y de WILLSTAETTER, así como por métodos potenciométricos, no ha sido posible establecer una relación entre las cantidades de formas oxidadas al final de la reacción y las cifras de insulina presente.

La insulina, al menos a concentraciones del orden de centésimas de unidad internacional, no actúa tampoco sobre la formación de ésteres fenólicos.

Es posible establecer, en cambio, una relación precisa entre cantidad de insulina e intensidad de color producido por oxidación de algunos dioxibenzoles. La intensidad de color ha sido estabilizada para un tiempo dado por sulfonación de los dioxibenzoles. Las curvas de concentración indican que el método es sensible para cifras de insulina incluso dentro de límites de 0,01 unidades internacionales, o sea de 0,45 γ.

La reacción no es influida por otras sustancias presentes en el páncreas después de la extracción de la insulina, ni por las existentes en otros órganos ensayados (estómago e hígado). Tampoco los aminoácidos que hemos probado interfieren la reacción.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 BANTING, F. G., y BEST, C. H. — Amer. J. Physiol., 62, 162, 1922; J. Labor. a. cli. Med., 7, 251, 1922; J. Labor. a. cli. Med., 8, 464, 1922; Amer. J. Physiol., 63, 391, 1923; J. of Pharmacol., 21, 191, 1923.
- 2 KROGH, A. — Biological Standardisation of Insulin. Publ. of the League of Nations, C. H., 398, 1926; Dansk Vidensk. Selskab. Biol. Med., 7, 1928; The assay of insulin on rabbits and mice. Biol. Meddel. Kopenhagen, 7, 6, 1928.
- 3 HEMMINGSEN, A. M. — Quart. J. Pharmacol., 6, 39, 81.187, 1933.
- 4 KROGH, A., y HEMMINGSEN, A. M. — Health Org. of the League of Nations C. H., 389, 1926; Biochem. J., 22, 1.231, 1928.
- 5 HEMMINGSEN, A. M., y MARKS, H. P. — Quart. J. Pharm. Pharmacol., 5, 245, 1932; Quart. J. Pharm. Pharmacol., 6, 81, 1933.
- 6 HEMMINGSEN, A. M., NIELSEN, A., y NIELSEN, A. L. — Acta Med. Scandinav. Suppl., 90, 105, 1938.
- 7 MCLEOD, J. R. — Biochem. J., 24, 615, 1930; Erg. Physiol., 30, 444, 1930; Carbohydrate Metabolism and Insulin, New York, 1926.
- 8 MARKS, H. P. — Brit. med. J., 2, 1.102, 1925-1926; League of the Nations Rep. Insulin Standardisation, C. H., 398, 1926; Quart. J. Pharm., 5, 255, 1932; Quart. Bull. of the Health Org., League of Nations. Número extraordinario. Ginebra, 1936.
- 9 TREVAN, J. W. — Biochem. J., 23, 397, 1929.
- 10 LAQUEUR, E., y DE JONGH. — Biochem. Z., 163, 308, 1925.
- 11 LAQUEUR, E. — Biochem. Z., 163, 133, 1925.
- 12 ABDERHALDEN, E. — Pflügers Archiv., 203, 439, 1924; Pflügers Archiv., 205, 547, 1925.
- 13 GELLHORN, E., FELDMAN, J., y ALLEN, A. — Endocrinology, 29, 136, 1941.
- 14 FELDMAN, J., y GELLHORN, E. — Endocrinology, 29, 141, 1941.
- 15 WYSS, F. — C. R. Soc. Biol., 181, 327, 1925.
- 16 BISCHOFF, F. — J. Biol. Chem., 67, 547, 1926.
- 17 SCOTT, D. A. — Biochem. J., 28, 1.592, 1934; Biochem. J., 29, 1.048, 1935.
- 18 GERLOUGH, T. D., y BATES, R. W. — J. Pharmacol., 45, 19, 1932.
- 19 VALEUR, A. — C. R. Acad. Sciences, 129, 550, 1899.
- 20 FRIES, K., KOCH, H., y STUKENBROCK, H. — Liebig's Ann., 468, 179, 1929.
- 21 WILLSTAETTER, R., y DOROGI, S. — Ber. Dtsch. chem. Ges., 42, 2.147, 1909.
- 22 WILLSTAETTER, R., y MAJIMA, R. — Ber. Dtsch. chem. Ges., 43, 1.171, 1910.
- 23 MICHAELIS, L. — Chem. Rev., 16, 243, 1935; J. Amer. Chem. Soc., 58, 873, 1936.
- 24 BENEDICT, S. R., y THEISS, R. C. — J. Biol. Chem., 36, 95, 1918; J. Biol. Chem., 36, 99, 1918.
- 25 PELKAN, K. F. — J. Biol. Chem., 50, 491, 1922.
- 26 RAKESTRAW, N. W. — J. Biol. Chem., 56, 109, 1923.
- 27 JEPHCOTT, C. M. — Trans. Roy. Soc. Canada, V Biol. Sci., 25, 183, 1931.
- 28 STORCK, citado por PINOW. — Z. wiss. Photog., 11-12, 344, 1930.

ZUSAMMENFASSUNG

Man untersucht den Einfluss des Insulins auf die Produkte, die von der Oxydation der Benzoid-Semichinon- und Chinoidformen stammen. Mit den technischen Methoden nach Valeur und Willstaetter sowie mit denen der Potentiometer konnte keine Beziehung zwischen den oxydierten Formmengen am Ende der Reaktion und der vorliegenden Insulinmenge festgestellt werden.

Das Insulin hat bei Konzentrationen von Hundertsteln einer I. E. keinen Einfluss auf die Bildung von Phenolestern.

Dagegen kann man eine ganz bestimmte Beziehung zwischen der Insulinmenge und der Intensität der durch die Oxydation einiger Dioxybenzole auftretenden Farbe beobachten. Die Farbstärke wird durch die Verschwefelung der Dioxybenzole stabilisiert. Die Konzentrationskurven zeigen an, dass die Methode sogar für Insulinmengen innerhalb von 0.01 I. E., d. h. 0.45 γ sensibel ist.

Die Reaktion wird nicht durch andere, nach der Insulinextraktion im Pankreas vorhandenen Substanzen beeinflusst, noch durch solche, die in anderen zum Versuch angewandten Organen (Magen und Leber) vorhanden sind. Auch die von uns ausprobierten Aminosäuren tören die Reaktion nicht.

RÉSUMÉ

On étudie l'influence de l'insuline sur les produits dérivés de l'oxydation des formes benzénoïdes-semiquinone et quinoïde. Au moyen des techniques de Valeur et de Willstaetter, ainsi que par les moyens potentiométriques, il n'a pas été possible d'établir une relation entre les quantités de formes oxydées à la fin de la réaction et les chiffres d'insuline présente.

L'insuline du moins dans les concentrations de l'ordre des centièmes d'Unité Internationale n'agit pas sur la formation d'estères phénoliques.

Par contre il est possible d'établir une relation précise entre la quantité d'insuline et l'intensité de couleur produite par l'oxydation de quelques dioxybenzoles. L'intensité de la couleur a été stabilisée pour un temps donné par sulfonation des dioxybenzoles. Les courbes de concentration indiquent que la méthode est sensible pour des chiffres d'insuline même dans les limites de 0.01 Unités Internationales, c'est à dire de 0.45 γ .

La réaction ne souffre pas d'influence d'autres substances existantes dans le pancréas après l'extraction de l'insuline, ni par celles qui existent dans d'autres organes (estomac, foie). De même, les aminoacides que nous avons essayé n'interfèrent pas la réaction.

EL ESTADO DE LA MACIDEZ HEPATICA EN LOS PROCESOS PERFORATIVOS AGUDOS DEL ABDOMEN Y SU RELACIÓN CON EL NEUMOPERITONEO ESPONTANEO. COMPROBADO CON LOS RAYOS X

A. GARCÍA BARÓN

Jefe del Servicio de Enfermedades del Aparato Digestivo en la Casa de Salud Valdecilla (Santander)

En un trabajo sobre "El neumoperitoneo espontáneo, comprobado con los rayos X, en los procesos perforativos agudos del abdomen", publicado recientemente en *Medicina Española*, núm. 57, 1943, al tratar de las indicaciones de la exploración radiológica, escribíamos lo siguiente: "El médico práctico puede decirnos, con muy buen sentido, que para comprobar el neumoperitoneo dispone en todo momento de un procedimiento más sencillo y cómodo que los rayos X, como es la exploración por percusión de la desaparición de la macidez hepática. Es cierto; es más sencillo y cómodo, pero mucho menos perfecto y seguro, porque puede haber gas libre en la cavidad abdominal sin que la macidez esté desaparecida, y, en cambio, no existir macidez a pesar de que en la cavidad abdominal no haya gas; sin olvidar los casos en que realmente no se puede asegurar si la macidez persiste en su estado