

ORIGINALS

EFECTOS DE LA MOSTAZA NITROGENADA SOBRE TAMAÑO Y RESPIRACION ORGANICA

E. ARJONA, E. LÓPEZ GARCÍA, C. JIMÉNEZ DÍAZ, J. G. VILLASANTE y M. AGUIRRE.

Instituto de Investigaciones médicas. Universidad de Madrid.

Los efectos de las mostazas nitrogenadas sobre los órganos y actividades enzimáticas han sido estudiados en los pasados años, en primer término, por el interés del conocimiento de la acción de las iperitas como arma de guerra, y a continuación, en virtud de su efecto sobre los órganos hemopoyéticos y asimismo sobre los tumores, habiendo sido utilizados en estos procesos como terapéutica. Ultimamente un nuevo aspecto aumenta el interés por el conocimiento de la acción de estos tóxicos: KARNOFSKY, GRAEF y SMITH¹ demostraron una hiperplasia de las suprarrenales y características similares a las de la "reacción de alarma" (SELYE²), así como las alteraciones, picnosis y desintegración de los linfocitos en el timo, bazo y ganglios linfáticos. Por otra parte, KINDRED³, CHANUTIN y LUDEWIG⁴ y BETZ, HEUGSHEM y LECOMTE⁵ han confirmado el aumento de tamaño de las suprarrenales. Los últimos, así como nosotros^{6,7}, han demostrado cómo la inyección de N₃H produce un aumento de la eliminación urinaria de los 17-cetosteroides. Todo ello indica que la droga produce una estimulación de las suprarrenales.

Habiendo nosotros^{6,7} observado el efecto beneficioso del tratamiento con N₃H en enfermedades de disreacción (artritis reumatoide, asma, dermatopatías, etc.), cabe pensar que este efecto tenga algo que ver con la estimulación suprarrenal, aunque evidentemente no todo sea eso, pues su acción antimitótica, su efecto sobre los procesos de reacción antígeno-anticuerpo y su influjo sobre la permeabilidad vascular, etc., son independientes de tal posible acción adrenoestimulante. De todo ello se desprende el interés

de conocer más íntimamente las acciones de la mostaza nitrogenada en el organismo, y a ello venimos dedicando una serie de estudios. En esta comunicación reseñamos los datos obtenidos sobre tamaño y respiración de órganos.

TÉCNICA.

Para el estudio del tamaño de órganos hemos usado cobayas, de la misma edad y similar tamaño. Un lote de estos animales han sido normales para conocer la proporción de peso de los órganos al peso del cuerpo, como control. Otro lote ha recibido la inyección de mostaza-N. Los animales han sido inyectados intravenosamente con dosis desde 0,1-8 mg. por kg. de peso y sacrificados a tiempos graduales desde cinco-veinticinco días después. Otros animales han sido también inyectados después de haberseles sensibilizado con ovalbúmina y desencadenado el choque anafiláctico, que no fué mortal en ninguno de ellos. Los animales son sacrificados por golpe e inmediatamente abiertos, extrayéndose los órganos, que son inmediatamente pesados y transferidos a los medios adecuados para el estudio histológico o los estudios de respiración y glucólisis.

También se utilizaron, para el estudio de fermentos, ratas de nuestra colonia, estabilizadas e inyectadas con 2-8 mg. por kg. de N₃H.

RESULTADOS.

1.—Peso de los órganos.

En la tabla I se dan los valores medios del procentaje del peso total del cuerpo que corresponde a cada órgano en cobayas normales e inyectados con mostaza-N.

TABLA I

Peso de diversos órganos en cobayas normales.

Hígado	4,471 %
Bazo	0,151 %
Gonadas masculinas	0,640 %
Gonadas femeninas	0,055 %
Hipófisis	0,0041 %
Timo	0,0087 %
Suprarrenales	0,057 %

En los animales inyectados con N₃H, los valores obtenidos aparecen en la tabla II.

TABLA II

Peso de órganos en procentaje del peso total del cuerpo en cobayas inyectados con mostaza-nitrógeno.

Cobaya	Hígado	Bazo	Gonadas	Hipófisis	Timo	Suprarrenales
1	2,454	0,151	M. 0,772	0,0048		0,083
2	5,110	0,112	M. 1,116		0,0104	0,073
3	4,904	0,199	F. 0,025	0,0030	0,0120	0,055
4	3,484	0,104	M. 0,999	0,0037	0,0383	0,050
5	3,685	0,098	M. 1,068	0,0034	0,0110	0,063
6	5,110	0,129	M. 0,611	0,0028	0,0048	0,047
7	3,767	0,075	M. 0,691	0,0037	0,0104	0,050
8	4,040	0,130	M. 0,497	0,0040		0,071
Medias	4,07	0,122	M. 0,922	0,0032	0,0108	0,061

En suma, lo que se advierte es una ligera disminución del bazo e hipófisis, exigua variación en las suprarrenales y ligero aumento en las gonadas. No nos parece que estas variaciones de peso sean sin embargo significativas.

Cuando se comparan las variaciones del peso porcentual en estos órganos con el número de días de la inyección de mostaza se ve en cambio claramente la tendencia a subir de las suprarrenales. En la figura 1 se ve la curva de evolución

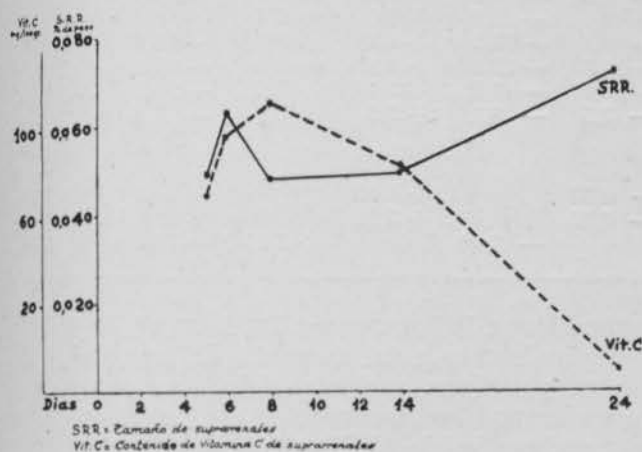


Fig. 1.

del peso y el contenido en vitamina C; éste descendiendo, encontrándose cifras muy bajas después de los veinte días de la inyección.

En los cortes histológicos de las suprarrenales se advierte con toda claridad una hiperplasia de la corteza, principalmente de las zonas reticular y fasciculada, como se muestra en la figura 2; la hiperplasia cortical es evidente en todos los animales, y es superior a lo que se

traduce en el estudio solamente del peso. La actividad funcional, si la juzgáramos por el

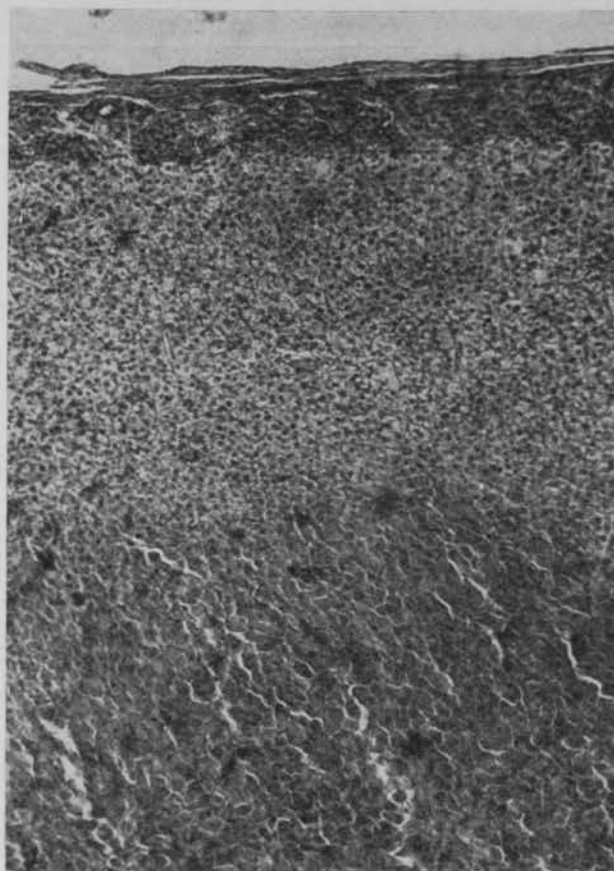


Fig. 2.

depósito de vitamina C, aparecería aumentada al principio para agotarse después.

TABLA III

Respiración y glucólisis anaerobia en órganos de cobaya normales e inyectados con mostaza-N.

	BAZO		RINON	
	Q _{O₂}	Q _{CO₂} ^{N₂}	Q _{O₂}	Q _{CO₂} ^{N₂}
NORMALES:				
	- 3,5	+ 2,6	- 3,9	+ 3,1
	- 7,6	+ 11,2	- 11,5	+ 5,3
	- 6,3	+ 8,5	- 13,7	+ 5,2
	- 6,9	+ 12,7	- 10,5	+ 4,0
	- 3,9	+ 6,5	- 13,5	+ 4,8
	- 3,7	+ 7,0	- 12,8	+ 7,1
	- 6,0	+ 9,7	- 13,2	+ 7,6
	- 4,0	+ 9,2	- 12,2	+ 6,1
Cifras medias normales	- 5,2	+ 8,1	- 11,4	+ 5,4
INYECTADOS:				
Con 1 mg/kg.	- 3,8	+ 6,9	- 3,9	+ 4,9
Con 1 mg/kg.	- 4,9	+ 9,6	- 6,5	+ 4,9
Con 2 mg/kg.	- 7,0	+ 9,9	- 11,2	+ 5,5
Con 4 mg/kg.	- 6,9	+ 10,8	- 13,3	+ 7,0
Con 8 mg/kg.	- 4,3	+ 6,8	- 10,2	+ 4,5
Con 8 mg/kg.	- 4,2	+ 8,5	- 12,5	+ 8,1
Con 8 mg/kg.	- 1,7	+ 4,2	- 6,8	+ 11,2
Con 10 mg/kg.	- 5,6	+ 9,0	- 12,6	+ 6,0
Cifras medias con 1 a 4 mg/kg.	- 6,1	+ 9,3	- 8,7	+ 5,5
" " " 8 a 10 mg/kg.	- 3,9	+ 7,1	- 10,5	+ 7,4

TABLA IV

Respiración y glucólisis de timo, bazo y corteza renal de ratas normales e inyectadas con nitrógeno mostaza. (Sacrificio de los animales entre las veinticuatro y setenta y dos horas de la inyección.)

Rata n.º	Dosis inyectada	T I M O				B A Z O				R I N O N	
		Q _{O₂}		Q _{N₂} CO ₂		Q _{O₂}		Q _{N₂} CO ₂		Q _{O₂}	Q _{N₂} CO ₂
		Inyect.	Normal	Inyect.	Normal	Inyect.	Normal	Inyect.	Normal	Inyect.	Normal
1	2 mg/kg.	-8,7		+ 4,7		-10,0		+ 6,6			
2	" "	-6,5	- 8,9	+ 4,6	+ 14,6	- 8,0	- 7,1	+ 5,2	+ 5,4		
3	8 mg/kg.	-2,1	- 4,0	+ 12,0	+ 16,0	0	- 7,8	+ 7,8	+ 6,7		
4	" "	-4,3	- 7,4	+ 3,9	+ 8,5	- 4,1	-10,2	+ 4,1	+ 7,6	-13,8	+ 2,4
5	" "	-5,9	- 8,8	+ 6,1	+ 9,2	-11,3	-12,1	+ 4,2	+ 6,4	-13,0	+ 2,0
6	" "	-3,4	-10,1	+ 2,2	+ 9,0	- 2,7	- 8,3	+ 3,0	+ 7,5	-14,7	+ 1,1
7	" "	-3,2	- 6,4	+ 2,9	+ 7,0	- 3,5	- 9,1	+ 2,9	+ 9,3	-17,7	+ 3,6
Cifras medias:											
	8 mg/kg.	-3,78		+ 5,42		- 4,32		+ 4,40		-14,8	+ 2,27
	2 "	-7,60		+ 4,65		- 9,00		+ 5,90			
	No inyectadas.		- 7,60		+ 10,71		- 9,10		+ 7,15	-15	+ 4,2

2.—Respiración y glucólisis anaeróbica.

En los órganos linfoides, bazo, timo y también en el riñón de cobayas y ratas inyectadas con dosis variables de mostaza nitrogenada, hemos estudiado la respiración (Q_{O₂}) y la glucólisis anaerobia (Q_{N₂}CO₂). Los datos obtenidos son visibles en las tablas III y IV.

Resumimos, para mayor visibilidad, los valores medios en la tabla V.

En resumen, lo que se ve es que ambos sistemas enzimáticos se afectan, pero más claramente la respiración que la glucólisis; en el riñón, la afección de ambos sistemas es mucho menor que en los órganos linfáticos (bazo y timo).

COMENTARIOS.

Nuestras observaciones confirman los hallazgos de los mencionados autores de una disminución de tamaño de órganos linfoides (bazo); el aumento de tamaño de las suprarrenales aparece con mayor claridad cuando se comparan los pesos en animales sacrificados a diverso tiempo de la inyección de mostaza y también en el examen histológico.

Cierto interés ofrece el hecho de un aumento al principio con descenso progresivo del contenido en vitamina C en la suprarrenal. El aumento de tamaño de estos órganos, según las ob-

servaciones de LUDEWIG y CHANUTIN⁴, es debido principalmente a un aumento del contenido en agua, proteínas y fosfolípidos, en tanto que disminuyen los ésteres de coles-terina y la concentración de lípidos totales. CHANUTIN y LUDEWIG⁵ han demostrado alteraciones bioquímicas en la sangre y en los órganos linfoides (en el bazo), principalmente descenso de coles-terina, fosfolípidos y ácido nucleico, así como aumento de producción de lipoproteínas.

Una parte de estas alteraciones son sin duda consecuencia de la estimulación de las suprarrenales; otras, sin embargo, no; el descenso del número de leucocitos y la atrofia de las estructuras linfáticas se producen aunque la inyección se haga en animales previamente suprarrenalectomizados^{1, 3}.

Las modificaciones en la actividad enzimática de los órganos ha sido estudiada bajo la acción de la mostaza por otros autores; DIXON y NEEDHAM⁹ han visto que los más sensibles son las hexoquinazas; GUZMÁN BARRÓN y cols.¹⁰ estudiaron el efecto de la adición de N-mostaza a los tejidos linfoides, encontrando un descenso de la actividad respiratoria y menos intenso de la glucólisis anaerobia. Modificaciones de la respiración en los tejidos linfoides de animales tratados con estas drogas han sido, por otra parte, investigadas comparativamente con los efectos de podofilinotoxina y colchicina por MILLER y cols.¹¹; la mostaza-N produce un des-

TABLA V
Valores medios

	T I M O		B A Z O		R I N O N	
	Respiración	Glucólisis anaerobia	Respiración	Glucólisis anaerobia	Respiración	Glucólisis anaerobia
RATAS NORMALES	-7,60	+ 10,71	-9,10	+ 7,15	-15,00	+ 4,20
Ratas inyectadas con 2 mg.	-7,60	+ 4,65	-9,00	+ 5,90		
Idem con 8 mg.	-3,78	+ 5,42	-4,32	+ 4,40	-14,80	+ 2,27
COBAYAS NORMALES			-5,20	+ 8,10	-11,40	+ 5,40
Cobayas inyect. hasta 4 mg.			-6,10	+ 9,30	- 8,70	+ 5,50
Idem con 8-10 mg.			-3,90	+ 7,10	-10,50	+ 7,40

censo de la respiración de tejidos linfáticos, bazo y timo, sin modificar en cambio la de los cortes de riñón, como ejemplo de órgano no linfático.

Nuestros estudios, como se ha visto, demuestran que las N_3H tienen una acción inhibitoria en general sobre la respiración de los tejidos, pero mucho más intensa y electiva por los órganos linfáticos, y que asimismo el sistema de glucólisis anaerobia está afectado. Este efecto, según MILLER y cols., es mucho menos intenso cuando se extirpan las suprarrenales, por lo cual cabría pensar que en parte se deba al estímulo que la droga hace sobre estas glándulas, que aumentando su secreción producirían el efecto sobre los órganos linfáticos. No obstante, la acción se da también añadiendo al medio la mostaza sobre cortes de órgano de animales no tratados, por lo que hay que aceptar que también aquella tiene una acción directa. Lo más probable es que la mostaza actúe sobre las estructuras linfoides, la linfolisis libere sustancias que estimulen las suprarrenales y el aumento de secreción de éstas acentúe a su vez la acción sobre los órganos linfoides.

SUMARIO.

Las mostazas-N tienen una acción linfólítica, y verosíblemente a su través se excita la secreción suprarrenal, que a su vez actúa sobre los órganos linfoides inhibiendo sus sistemas enzimáticos y activando la linfolisis. El resultado es hiperplasia suprarrenal, con hipersecreción, y linfolisis con reducción del tamaño de las estructuras linfáticas. Estos efectos son los responsables, no totalmente, pero seguramente en parte, de la acción de estas drogas sobre las enfermedades alérgicas, y de su similitud a la acción de la cortisona y ACTH.

BIBLIOGRAFIA

1. KARNOFSKY, D. A., GRAEF, I. a. SMITH, H. W.—Am. J. Pathol., 24, 275, 1948.
2. SELYE, H.—Endocrinology, 21, 169, 1937.
3. KINDRED, J.—Arch. Pathol., 43, 253, 1947.
4. LUDEWIG, S. a. CHANUTIN, A.—Endocrinology, 38, 376, 1946.
5. BETZ, H., HEUSCHEM, C. et LECOMTE, J.—Rev. belge de Pathol. et de Med. experim., 19, 251, 1949.
6. JIMÉNEZ DÍAZ, C., MERCHANT, A., PERIANES, J., LÓPEZ GARCÍA, E. y PUIG LEAL, J.—Helvet. med. Acta, 17, 583, 1950.
7. JIMÉNEZ DÍAZ, C.—Ann. Rheum. Dis., 10, 144, 1951.
8. CHANUTIN, A. a. LUDEWIG, S.—J. Biol. Chem., 167, 313, 1947; 176, 999, 1948.
9. DIXON, M. a. NEEDHAM, D. M.—Nature, 158, 432, 1947.
10. GUZMÁN BARRÓN, E. S., BARTLETT, G. R., MILLER, Z. B., MEYER, J. a. SEEGMILLER, J. E.—J. exp. Med., 87, 503, 1948.
11. MILLER, Z. B., DAVISON, C. a. SMITH, P. K.—J. exp. med., 92, 113, 1950.

SUMMARY

Nitrogen mustards have a lympholytic action. It is possible that they excite suprarenal secretion which, in turn, acts on lymphoid organs and inhibits their enzymatic systems, thus activating lympholysis. All this process results in suprarenal hyperplasia and hypersecretion and in lympholysis with decrease in size of lymphatic structures. These effects may, in part,

account for the action of Nitrogen mustard on allergic diseases and for the fact that this action is similar to that of cortisone and ACTH.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Stickstoffsenfverbindungen haben eine lympholytische Wirkung; und auf diesen Wege wird wahrscheinlich die Nebennierensekretion angeregt, die ihrerseits wiederum auf die Lymphoidorgane einwirkt. So werden die enzymatischen Systeme gedrosselt und die Lympholyse angeregt. Das Ergebnis ist eine Nebennierenhyperplasie mit Uebersekretion und Lympholyse mit einer Reduzierung der lymphatischen Strukturverhältnisse. Diese Tatsachen sind sicher zum Teil, wenn auch nicht allein verantwortlich für die Wirkung dieser Drogen auf die allergischen Krankheiten und für eine dem Cortison und ACTH ähnlichen Wirkung.

RÉSUMÉ

Les moutardes azotées ont une action lympholitique et c'est peut être par leur action que la sécrétion surrénale s'excite et agit à son tour sur les organes lymphoïdes en inhibant ses systèmes enzymatiques et en activant la lympholise. Le résultat c'est: hyperplasie surrénale avec hypersécrétion et lympholise avec réduction de la grosseur des structures lymphatiques. Ces effets sont les responsables, non totalement, mais certainement en partie, de l'action de ces drogues sur les maladies allergiques, et de sa similitude avec l'action de la cortisone et ACTH.

INTRADERMORREACCIONES CON FRACCIONES SOLUBLES BACTERIANAS

C. JIMÉNEZ DÍAZ, J. M.^a SEGOVIA, A. ORTEGA y E. ARJONA.

Instituto de Investigaciones Médicas. Director: Profesor C. JIMÉNEZ DÍAZ.

Sección de Bacteriología, Inmunidad y Alergia

La alergia bacteriana tiene planteados numerosos problemas, algunos de los cuales ofrecen considerable dificultad. Se han entablado discusiones sobre su misma existencia, y aunque en general y en un sentido amplio, es admitida por casi todos, no existe igual acuerdo sobre sus límites precisos y mucho menos hay unanimidad en la interpretación de los fenómenos en los que de una u otra manera interviene la hipersensibilidad bacteriana. La diversidad de opiniones existe no sólo en lo que se refiere al papel que la alergia bacteriana juega en el desencadenamiento de ciertos tipos de asma, urticaria, edema angioneurótico, jaqueca y eczema, sino también en su posible inter-