

für die Wirkung des Pepsins optimale pH ist 2,2 und für Kathepsins 3,3; bei einem pH von 2,8 kommt es bei beiden zu einer Depression der enzymatischen Wirkung. Ueber ein pH von 5 hinaus fällt die enzymatische Aktivität stark ab, erholt sich aber wieder bei Ansäuerung. Bei allen diesen Vorgängen deckt sich das Verhalten des Magensaftes vollständig mit dem des kristallisierten Pepsin. Alkalisiert man hingegen, dann kommt es zu einer Inaktivierung des Pepsins und Kathepsins, welche umso ausgeprägter ist je höher das pH ansteigt; bei Ueberschreiten von 8 ist die Inaktivierung nicht mehr umkehrbar. Diese Empfindlichkeit der Alkalisierung gegenüber ist nicht bei allen Säften dieselbe; sie ist bei vielen Säften für das Nichtvorhandensein der enzymatischen Fähigkeit verantwortlich und ist möglicherweise auf eine genuine Afermentia oder eine intra-gastrische Inaktivierung zurückzuführen.

RÉSUMÉ

On fait ressortir l'importance que pour la digestion dans l'estomac représente, unie à la

pepsine, la II protéase gastrique, qui correspond à la catepsine du jus. A ce sujet, on étudie la cinétique de cet enzyme, en employant de la pepsine cristallisée et du jus gastrique, agissant sur un substratum d'édestine. Dans les deux cas, la catepsine est la même, en ce qui concerne l'influence de la température, temps d'hydrolyse, concentration de l'enzyme et concentration du substratum. Le pH optimal pour l'action de la pepsine est de 2,2 et pour la catepsine de 3,3; il existe entre les deux une dépression de l'action enzymatique à pH 2,8. Passé un pH de 5 l'activité enzymatique diminue sensiblement pour se récupérer à l'acidification. Dans tous ces aspects, la réponse du jus gastrique et de la pepsine cristallisée est totalement superposable. Par contre, au moment de l'alcalinisation il se produit une inactivation de la pepsine et de la catepsine d'autant plus forte que le pH soit élevé; en passant de 8 l'inactivation est irréversible. Cette sensibilisation à l'alcalinisation n'est pas pareille dans tous les jus et est responsable du manque de capacité enzymatique de bien de jus, ce qui est peut-être dû à une afermence naturelle ou à une inactivation intragastrique.

CINETICA DE LA CATEPSINA DEL JUGO GASTRICO

II. *Influencia del SH₂ y del CNK sobre su actividad.*

M. DÍAZ-RUBIO, F. SEGOVIA y A. MILLÁN.

Clinica Médica Universitaria de Sevilla.
Catedrático: Doctor M. DÍAZ-RUBIO.

Como complemento de nuestro trabajo anterior sobre cinética de la II proteasa gástrica, hemos estudiado la influencia del SH₂ y del CNK sobre su actividad. Su interés estriba en diversos motivos: primero, por los resultados discordantes obtenidos por los autores, que en muy escaso número se han ocupado de este aspecto; segundo, para precisar o denegar la naturaleza catéptica de tal acción enzimática y, finalmente, por la trascendencia que su conocimiento tiene para la fisiología y fisiopatología gástrica.

Es un hecho, al parecer cierto, la existencia en la pepsina de grupos aminados libres y en especial su riqueza en tirosina. Trabajos de HERRIOT, así como de LI, han demostrado que aunque la molécula de pepsina contiene una o dos histidinas que pueden ser halogenizadas y, por tanto, reaccionar, este papel le incumbe prácticamente en su totalidad a la tirosina, de la que 12 de sus 17 grupos tirosínicos pueden ha-

logenizarse cuando la pepsina está sin desnaturalizar. De ello concluye LI el que serían los grupos fenólicos superficiales de su molécula esférica los que entrarían en reacción. Su desnaturalización rompería las cadenas de péptidos, lo que permite reaccionar a los grupos tirosínicos centrales. El papel de la acidez del medio es también de gran interés, ya que si es indispensable la integridad de los grupos tirosínicos, tanto para la acción de la enzima en función "pepsínica" como "catéptica", las investigaciones de MILHAUD y EPINEY permiten concluir en que la tirosina es más necesaria para la actividad de esta última que la de aquella. En cambio, los grupos alfa-aminados e imidazólicos no serían indispensables para la proteólisis.

El punto de discusión alrededor de estos aspectos radica en la existencia o no de grupos thiólicos -SH o de grupos -S-S- en la molécula de la pepsina, y de cuya presencia depende el considerar como una catepsina la acción enzimática de la pepsina desplegada al pH de 4 cuando el sustrato es la ovoalbúmina y la caseína y de 3,3 cuando lo es la edestina. La presencia de tales grupos, y por ello tal carácter catéptico, es afirmada por BUCHS y FREUDENBERG, así como por WISS y RAMER, y en cambio denegada por MERTEN y por MILHAUD, DEMOLE y EPINEY, basados ante todo en su conducta frente al CNH, el ácido monoyodoacético y el SH₂. Es el modo de conducirse ante éste y el primero lo que estudiamos en este trabajo.

MÉTODO.

La metódica seguida fué la que quedó detallada en otro trabajo anterior. Las variantes en cada experiencia se señalan a continuación al discutir los resultados. Cuando se trabajó con pepsina, las soluciones fueron hechas siempre momentos antes; del mismo modo, cuando se trabajó con el jugo, se hizo inmediato a su extracción y tras desposeerle del moco.

RESULTADOS Y CONSIDERACIONES.

1. Influencia del SH_2 .

Para su estudio se hizo pasar una corriente de SH_2 a través del jugo gástrico durante veinte minutos, investigando después su actividad catéptica junto a los correspondientes testigos. Como se ve en el cuadro I, en todos los casos, excepto en uno, se apreció una *activación*, aunque de grado distinto, pero de intensidad igual en el jugo de ayunas que en el segregado tras el estímulo.

Tal resultado, similar a lo visto por BUCHS y por WISS y RAMER, está en oposición con lo observado por MILHAUD y EPINEY. Es posible que tales diferencias de resultados no estriban sino en las condiciones de trabajo; así, el jugo de la experiencia 16, el cual como vemos se activó notablemente; en cambio, cuando fué expuesto durante cuarenta y ocho horas a la acción del SH_2 en tubo cerrado, se condujo exactamente igual que el testigo, sin modificarse en nada su actividad enzimática. Incluso en estas condiciones puede inactivarse, aunque en grado ligero—un 16 por 100—, como sucedió con el jugo de la experiencia 23, quizá por desnaturalización de la proteína misma.

El efecto, por tanto, que debemos considerar como normal y constante es el de activación, cuyas razones deben estribar, sin duda, en la reducción por el sulfhídrico de los grupos -S-S- a -SH, activadores naturales estos últimos de la enzima. No obstante, *la tan distinta intensidad de la activación de unos jugos a otros, nos indica que ésta debe ser algo más compleja, actuando, eso sí, sobre la enzima directamente, pero también a través de los restantes componentes del jugo*. En efecto, ello contras-

ta con la uniformidad de los resultados, en su grado, cuando el sistema enzimático está constituido por la pepsina cristalizada en lugar del jugo.

2. Influencia del cianuro potásico.

Mientras WISS, así como RAMER, señalan que éste activa la pepsina, activación que según BUCHS existiría también cuando actúa el fermento a un pH de 3,3 sobre el substracto edestina, lo que conferiría el carácter de una catepsina a la acción de la II proteasa gástrica, tal activación no es observada ni por MERTEN ni por MILHAUD y EPINEY. Para aclarar tal punto montamos nuestra primera experiencia (experiencia 7); en ella, mientras el testigo, compuesto por el sistema digestivo completo, con jugo gástrico como fuente de enzima, demostró la existencia en éste de 2,3 unidades de "catepsina", se apreció tras exponer el jugo durante media hora a la adición de 0,05 y 0,15 c. c. de solución M/10 de CNK, una *inactivación* de un 13 y un 52 por 100, respectivamente. Tal resultado, contradictorio con lo señalado por dichos autores, exigía una confirmación y un estudio detallado y profundo en distintos aspectos.

En primer lugar, para descartar la posible influencia del CNK sobre las partes restantes del sistema enzimático, se montó la experiencia siguiente (exp. 8), y cuyos resultados confirmamos en otras posteriores. En ellas se hizo: una exposición previa del jugo solo, durante 20' (tubo J), del substracto solo (tubo E) y del sistema completo (tubo SC), empleando en todos los casos 0,15 c. c. de sol. M/10 de CNK. Como es natural, se hizo a la vez el estudio en una muestra testigo, sin exposición alguna (tubo T). Los resultados fueron los siguientes:

Tubo	Unidades de catepsina	Por 100 de inactivación
T.	3,2	—
J.	1,6	50
E.	2,8	12
SC.	2,8	12

CUADRO I

Experiencia	Miligramos de tirosina		Por 100 de activación	pH inicial de jugo	Condiciones
	Testigo	Jugo tras acción SH_2			
16	0,390	0,639	63	1,5	Jugo de ayunas.
23	0,260	0,340	30	1,5	Idem. id.
25	0,216	0,260	20	2,1	Idem id.
25	0,188	0,180	0	2,0	Idem tras histamina.
26	0,292	0,328	12	1,9	Idem de ayunas.
26	0,292	0,328	12	1,35	Idem tras histamina.
44	0,752	1,650	110	2,05	Idem de ayunas.
44	0,604	1,450	140	2,2	Idem tras cafeína.

Con ello quedó demostrado que si bien el CNK puede actuar sobre las distintas partes del sistema enzimático, su acción fundamental la ejerce sobre el jugo.

Dicha inactivación, que confirmamos en una gran cantidad de jugos, no se da empleando soluciones muy diluidas de CNK, por lo que nuestra discordancia con los resultados de MERTEN y de MILHAUD y cols. es sólo aparente. En efecto, utilizando soluciones de concentración baja, como las empleadas por estos autores, no se aprecia acción alguna en uno u otro sentido. Tal influjo de concentraciones varias de CNK lo estudiamos empleando sistemas enzimáticos distintos, en los que en uno la fuente de enzima era la pepsina cristalizada y en el otro el jugo gástrico. La metodología de trabajo fué la señalada en otro anterior, con la acción previa durante diez minutos, a 40 grados, de una décima de c. c. de la sol. de CNK sobre el fermento o el jugo. En el cuadro II puede apreciarse la influencia de soluciones de concentración distinta de CNK sobre el sistema constituido con la pepsina cristalizada.

CUADRO II

Sistema completo	Miligramos de tirosina (grado de hidrólisis)
Sin CNK.	
Con CNK.	0,118
" " (sol. M).	0,0
" " (sol. M/10).	0,0
" " (sol. M/100).	Ligero color; indosific.
" " (sol. M/1.000).	0,119

Como vemos (exp. 61) se comprueba una vez más, ahora usando la pepsina cristalizada como fuente de fermento, la existencia de una inactivación que sucede empleando las concentraciones M y M/10 e incluso la M/100, pero no a diluciones mayores, las cuales por otro lado tampoco producen una activación. Un estudio similar hicimos montando una experiencia en la que el jugo fué sometido a la acción de diluciones crecientes de CNK con el siguiente resultado (cuadro III):

CUADRO III

Sistema completo	Miligramos de tirosina
Sin CNK.	0,408
Con CNK (sol. Molar).	0,000
" " (sol. M/10).	0,000
" " (sol. M/100).	0,380
" " (sol. M/1.000).	0,380
" " (sol. M/10.000).	0,408
" " (sol. M/100.000).	0,408
" " (sol. M/1.000.000).	0,408

También aquí, como cuando se trabaja con pepsina, la inactivación es completa a concentración M y M/10, despreciable a la M/100 y

M/1.000 y nula a diluciones mayores. Como complemento se hizo la siguiente experiencia (experiencia 64), en la que se sometió el jugo a concentraciones entre M/10 y M/100, ya que entre ellas desaparece el poder inactivador (cuadro IV):

CUADRO IV

Sistema completo	Miligramos de tirosina
Sin CNK.	0,420
Con CNK (sol. M/10).	0,000
" " (sol. M/20).	0,070
" " (sol. M/30).	0,200
" " (sol. M/40).	0,325
" " (sol. M/50).	0,389
" " (sol. M/60).	0,421
" " (sol. M/70).	0,421
" " (sol. M/80).	0,421
" " (sol. M/90).	0,421

La desaparición de la acción inactivadora del CNK se verifica, pues, de forma lenta, trazándose una curva ascendente de trazo suave entre la concentración M/10 y la M/100. En otros ensayos modificamos las condiciones del sistema, tratando previamente el jugo con cantidades distintas de la solución M/10 de CNK. En ellas se empleó 0,1, 0,2, 0,3 y 0,6 c. c. de ésta, observándose siempre, salvo excepción, una inactivación, la cual, difiriendo en su grado de unos jugos a otros, era habitualmente mayor al elevar la cantidad empleada de la sol. de CNK. Tal diferencia en la conducta de unos jugos a otros está en oposición con la monotonía de comportamiento cuando se emplea la pepsina, en la que el grado de inactivación es siempre el mismo.

Con el fin de encontrar el efecto activador del CNK, señalado por WISS, RAMER y BUCHS, hicimos otras experiencias haciendo actuar aquél sobre diluciones crecientes del fermento. Siguiendo esta vía, es como el primero de dichos autores ha visto aparecer una activación tras un efecto inhibitor transitorio. Un hallazgo de tal índole sería un apoyo firme a la naturaleza catéptica del fermento, ya que como KLEINMANN y WERR señalan, las catepsinas de los órganos se activan notablemente con la dilución del enzima. Con tal objeto, hicimos una primera experiencia (exp. 69) haciendo actuar 0,10 c. c. de sol. M/10 de CNK, sobre diluciones crecientes de pepsina cristalizada, hechas a partir de una solución madre al 0,42 por 100 en CIH N/33 de pH 3. De tal forma, la cantidad de pepsina contenida en ella, tratada con CNK y sin tratar, para utilizarla como testigo, era de 0,00042 g. El resto del sistema y técnica seguida es la que se sigue en este trabajo y descrita en otro anterior, considerándose en los resultados, como siempre, los valores de los testigos de cada uno de los elementos del sistema. El resultado de esta experiencia confirma todo lo anterior, ya que mientras el tubo testigo, sin tratar con CNK, depuró una proteólisis de 0,428 mg. de

tirosina, la inhibición de ésta fué absoluta, con resultados de 0, en todas las muestras con diluciones de la solución de pepsina siguientes: 1, 1/5, 1/10, 1/50, 1/100, 1/500, 1/1.000 y 1/5.000.

Complemento de la anterior es la experiencia 67, en la que la fuente de fermento fué el

jugo gástrico en lugar de la pepsina cristalizada. Las distintas diluciones de éste fueron sometidas, previamente a su actuación en el sistema fermentativo, y durante una exposición de media hora, a la acción de 0,10 c. c. de solución M/10 de CNK. Los resultados se exponen en el cuadro V.

CUADRO V

Dilución	Cantidad de jugo			Miligramos de tirosina
1	0,1	c. c.	Testigo.	0,380
1	0,1	c. c.	Tratado con CNK.	0,000
1/5	0,02	c. c.	" " "	0,000
1/10	0,01	c. c.	" " "	0,000
1/50	0,002	c. c.	" " "	Mínimo color; indosificable.
1/100	0,001	c. c.	" " "	0,104
1/500	0,0002	c. c.	" " "	Mínimo color; indosificable.
1/1.000	0,0001	c. c.	" " "	0,000
1/2.000	0,00002	c. c.	" " "	0,000

La inhibición es aquí también manifiesta, no apreciándose en ningún momento no ya una activación, sino una persistencia de actividad; sólo se observa, curiosamente, una tendencia a recobrarla en las diluciones de jugo entre 1/50 y 1/500, por lo que se hizo una nueva experiencia (exp. 68) con diluciones entre estos dos

márgenes. Por lo demás, el sistema era análogo a los anteriores. En el cuadro VI se ve la conducta a dichas diluciones. En él se confirma, una vez más, la ausencia de activación, existiendo sin embargo una zona, entre las diluciones señaladas, en la que la inactivación no es absoluta.

CUADRO VI

Dilución	Cantidad de jugo			Miligramos de tirosina
1	0,1	c. c.	Testigo.	0,398
1/50	0,002	c. c.	Tratado con CNK.	Color mínimo; indosificable.
1/75	0,0015	c. c.	" " "	Idem, id. id.
1/100	0,001	c. c.	" " "	0,112
1/200	0,0005	c. c.	" " "	0,114
1/300	0,00033	c. c.	" " "	Color mínimo; indosificable.
1/400	0,00025	c. c.	" " "	Idem, id. id.
1/500	0,0002	c. c.	" " "	Idem, id. id.

Por la existencia de una probable influencia de la temperatura sobre el grado de inactivación producido por la acción del cianuro, se estudió ésta actuando durante media hora sobre el jugo, a la temperatura ambiente y a 60 grados. Como ejemplo señalamos en el cuadro VII

CUADRO VII

Experiencia número	Jugo procedente de ayunas (A) tras histamina (H)	Temperatura	Por 100 de inactivación
28	A.	60 grados.	35,7
		Ambiente.	20
	H.	60 grados.	12,5
		Ambiente.	12,5
29	A.	60 grados.	100
		Ambiente.	51
	H.	60 grados.	100
		Ambiente.	55

los resultados de dos experiencias, en las que se estudió tal acción sobre el jugo segregado en ayunas y el procedente de la acción de la histamina.

El cuadro VII nos pone de manifiesto, cosa que se confirmó en experiencias posteriores, que el grado de inactivación por el cianuro aumenta con la temperatura, consiguiéndose en ciertos jugos que aquélla sea total al elevarla hasta 60 grados. Sin embargo, ello no sucede siempre, a diferencia de cuando se trabaja con pepsina cristalizada, lo que nos habla sobre las peculiaridades de ciertos jugos.

En otras experiencias (exp. 30) hemos investigado el influjo que pudiera tener el tiempo de exposición a la acción del cianuro, demostrándose que éste es nulo. Para ello se montó una prueba en la que se estudió, aparte el testigo sin cianuro, el mismo sistema tras la exposición del jugo a la acción del CNK a la temperatura ambiente, durante 37 minutos, y en otros

tubos a 60 grados, pero a distintos tiempos de exposición (5 minutos, 13, 25 y 37). El grado de inactivación fué igual, de 73 por 100 en estos cuatro y de 71 por 100 en el anterior.

Dado que se observa repetidamente cuando se estudia, como hemos hecho, la acción del CNK en gran número de jugos, el que *el grado de inactivación suele ser muy diferente de unos a otros, en oposición a la constancia que en su grado se aprecia trabajando con soluciones de pepsina*, era preciso analizar las causas responsables. En tal sentido era preciso considerar en primer lugar *la influencia que el pH previo del jugo pudiera tener*. Como se ve en el cuadro VIII, la inactivación por CNK es nula cuando actúa sobre jugos de pH alcalinos, sin duda por desnaturalización de la proteína con motivo de la alcalinización, y encontrarse por ello previamente inactivados, como en otro lugar hemos señalado. En cambio, en los jugos de pH ácido, y aunque puede haber alguna excepción en que la inactivación no tiene lugar (casos 42 y 43), la acción del CNK es franca en el sentido señalado por nosotros. Sin embargo, *la inactivación es de grado variable, sin que se pueda establecer paralelismos ni relación alguna entre su intensidad y el grado de acidez previa del jugo*.

Con el fin de aclarar las posibles influencias capaces de modificar el grado de inactivación

y en última instancia la acción del cianuro, y más dados los resultados expresados en la tabla, se investigó la acción de éste sobre el jugo tamponado previamente a pH diferentes (experiencia 31). Para ellos dispusimos sistemas: enzima (1,5 c. c. de jugo), CNK (0,3 c. c. solución M/10), tampón (2,4 c. c.) de pH 1,8, 3,3 y 6,6 obrando durante 30'. Posteriormente se tomó de ello 1,4 c. c. para la prueba de hidrólisis siguiendo la técnica habitual. Como es natural, se hicieron además los testigos correspondientes. Los resultados fueron los siguientes:

Tubo testigo	0,580 mg. tirosina
Tubo pH 1,8	0,560 " "
Tubo pH 3,3	0,540 " "
Tubo pH 6,6	0,512 " "

Como puede apreciarse, la presencia del tampón impide la inactivación prácticamente, tanto más cuanto el pH del mismo es más ácido. Ello prueba, como lo hace sospechar todo lo hasta ahora expuesto y los datos de cinética señalados en el trabajo anterior, la importancia que tienen en la acción de la enzima, y en la de los distintos efectores sobre ésta, las partes restantes del jugo, medio en el cual se encuentra y actúa aquélla, y que hace que las condiciones de su dinámica sean distintas de las que se tienen trabajando con soluciones de pepsina cristalizada. Tiene por ello interés considerar

CUADRO VIII

Caso número	pH inicial del jugo	JUGO PROCEDENTE DE	Por 100 de inactivación
9	7,95	Ayunas.	0
12	3,2	Tras estímulo desayuno Boas.	12
26	1,9	Ayunas.	64
"	1,35	Tras estímulo histamina.	3
27	1,75	Ayunas.	100
"	3	Tras estímulo histamina.	100
28	3,8	Ayunas.	20
"	3	Tras estímulo histamina.	12,5
29	3,2	Ayunas.	51
"	2,8	Tras estímulo histamina.	55
30	4,5	Ayunas.	71
13	8,4	Ayunas.	0
"	7,4	Tras estímulo alcohol.	0
14	3,35	Ayunas.	100
"	1,5	Tras estímulo alcohol.	100
32	4,6	Ayunas.	69
35	4,8	Ayunas.	69
"	2,8	Tras estímulo cafeína.	63
36	6,5	Ayunas.	35
"	2,8	Tras estímulo cafeína.	64
37	2	Ayunas.	27
"	2	Tras estímulo cafeína.	66
38	6,5	Ayunas.	49
"	2,5	Tras estímulo cafeína.	78
41	1,8	Ayunas.	68
"	1,4	Tras estímulo cafeína.	10
42	1,6	Ayunas.	0
"	2,3	Tras estímulo cafeína.	10
43	1,4	Ayunas.	0
"	2,5	Tras estímulo histamina.	16
44	2,05	Ayunas.	23
"	2,5	Tras estímulo cafeína.	
57	3,2	Ayunas.	100
62	2,5	Ayunas.	100

el grado de inactivación en la muestra de jugo en ayunas y en el segregado tras el estímulo en un mismo caso. En el cuadro VIII se ve cómo existe alguna diferencia entre ambas muestras; sin embargo, tal diferencia no es siempre del mismo signo. Así, mientras el grado de inactivación fué el mismo en el jugo de ayunas y en el segregado cuando se estimuló con alcohol, a pesar del aumento de secreción de catepsina que éste produce, en los jugos segregados tras la histamina, la inactivación es igual o menor que en los de ayunas, salvo una excepción. Considérese en este sentido que, como BUCHS señala y nosotros hemos visto, la histamina no modifica la secreción de fermento, permaneciendo cuantitativamente invariable. En cambio, los jugos segregados tras la cafeína, la cual aumenta la secreción de enzima, son inactivados por el cianuro con una intensidad mayor que los de ayunas, excepto en un caso. Dada esta conducta, y para eliminar una posible acción directa de la cafeína sobre la enzima, o sobre el CNK en la acción de éste, se montaron dos tipos de experiencias: en una (exp. 39), se expuso el jugo previamente, durante 30', a la acción de la cafeína sola; en otro tubo, a la de ésta conjuntamente con el CNK, utilizándose finalmente otro tubo como testigo. Una vez ello, se tomó parte del jugo así tratado para llevarle al sistema hidrolítico con edestina y a pH 3,3 y estudiar su actividad catéptica. El resultado fué el siguiente:

Tubo testigo, liberó 0,436 mg. tirosina.

Tubo cafeína-jugo, liberó 0,436 mg. tirosina; 0 por 100 de inactivación.

Tubo cafeína-jugo-CNK, liberó 0,132 mg. tirosina; 67 por 100 de inactivación.

Con ello quedó demostrada la ausencia de una influencia directa de la cafeína sobre la acción enzimática, así como la de no existir una interferencia entre ella y la acción inactivadora del CNK. Como a pesar de todo podía ésta estar disminuida en su grado, se hizo otra (experiencia 40) en la que previamente se trató el jugo en un tubo con CNK y solución de cafeína y en otro con aquél solo y el consiguiente complemento de agua. El resultado fué igual en ambos sistemas: 0,132 mg. de tirosina.

* * *

Tal acción inactivante del CNK cuando obra sobre la enzima en sol. M y M/10, en las proporciones expuestas, y la falta en nuestra observación de una activación del fermento, no obstante actuar en las condiciones más distintas de dilución de éste y de aumento del primero, deniega hasta cierto punto el que la acción del fermento proteolítico gástrico, actuando a pH 3,3 con edestina como substrato, y al de 4 cuando éste lo es la ovoalbúmina o la caseína, corresponda por su carácter y naturaleza a una catepsina. Pero decimos hasta cierto punto, ya

que su enjuiciamiento sobre esta base debe partir de la consideración de las condiciones en que la enzima se encuentra. Ya el mismo BUCHS reconoce, dado el mecanismo de acción del CNK en la activación de las catepsinas de los órganos, el que no es nada de extraño que no tenga lugar ésta al actuar sobre la pepsina cristalizada. En efecto, según KLEINMANN y STERN, y aquél con WERR y con RONA, la purificación de la catepsina de los órganos, merced a la adsorción y la elución, origina que no tenga lugar la capacidad activadora del CNK. Por ello, consideran MYRBAECK y KREBS que la causa de tal activación de las catepsinas de los órganos por el CNK se debería a la eliminación que éste originaría de cuerpos inhibidores de aquéllas. De tal forma, es lo justo el que el fermento aislado no tendría por qué activarse. No obstante, queda en pie esta acción inhibidora que nosotros hemos encontrado y que pondría en tela de juicio la consideración de la naturaleza catéptica de tal II acción de la proteasa gástrica.

Pero de uno u otro modo, surge un problema fundamental al que hemos hecho repetidamente alusión. Y es el que *mientras la acción inactivadora del CNK es monótona y uniforme cuando se estudia empleando soluciones de pepsina cristalizada, tal acción, aunque existente salvo rara excepción, es en cambio de intensidad y grado variable cuando se estudia sobre el jugo gástrico*. Ello nos hace concebir su acción en un doble sentido: una directa, sobre el mismo enzima, evidentemente inactivadora en nuestras condiciones de trabajo, y cuya mejor expresión la tenemos en la ejercida sobre la pepsina cristalizada; la otra indirecta, actuando sobre el medio que rodea al fermento, tal y como se encuentra naturalmente en el jugo, y que no son sino los restantes elementos de éste, al margen del grado de acidez y de la acción tampón del moco gástrico, ya que éste fué siempre excluido en el estudio del sistema digestivo "in vitro". En tal sentido, la acción inactivadora debe actuar interfiriendo la acción de activadores naturales de la enzima, presentes en el jugo gástrico, o exaltando la acción de inactivadores existentes en él. Todo ello nos conduce a un aspecto del máximo interés, cual el de la importancia y significación de factores de orden y naturaleza diversa existentes en el jugo gástrico, distintos del ClH y de la pepsina. Su trascendencia para la acción digestiva y autodigestiva y, por tanto, para la fisiología, fisiopatología y patogenia puede ser grande. Tal aspecto es motivo de otro trabajo.

RESUMEN.

Se estudia la influencia del SH₂ y del CNK sobre la actividad de la catepsina gástrica. El primero produce una activación de intensidad constante trabajando con pepsina cristalizada y de grado variable en los diversos jugos: sólo

se apreciaba una inactivación actuando en tubo cerrado. En cambio el CNK, a las altas concentraciones que hemos empleado, produce siempre una inactivación que no se ofrece cuando aquéllas son muy diluídas. Tal inactivación se apreciaba también incluso haciendo diluciones crecientes del fermento y aumenta con la temperatura.

En oposición a la constancia que en el grado de inactivación se apreciaba trabajando con soluciones de pepsina, es aquél de intensidad muy diferente de unos jugos a otros, independientemente de su grado previo de acidez; sin embargo, un tamponamiento con pH muy ácido impide en parte tal inactivación. Ello, así como la distinta conducta de los diversos jugos entre sí, y la del de ayunas respecto al provocado tras el estímulo, hace considerar en la acción del cianuro junto a la que directamente tiene sobre la enzima, la que ejerce, o se coarta en parte, a través de los restantes componentes del jugo. Finalmente, tal acción del cianuro no invalida el considerar a la II proteasa gástrica como una catepsina y más dada su distinta acción según las condiciones en que ésta se encuentra y los restantes datos de cinética estudiados.

Todo hace considerar la importancia de factores distintos, existentes en el jugo, para la actividad de la enzima y en la acción de distintos efectores sobre ésta.

BIBLIOGRAFIA

- BUCHS.—Gastroenterología, 81, 44, 1954.
 FREUDENBERG y BUCHS.—Schweiz. Med. Wschr., 1, 249, 1940.
 HERRIOT.—J. Gen. Physiol., 31, 19, 1947.
 KLEINMANN y STERN.—Biochem. Zeitschr., 222, 31 y 84, 1930.
 KLEINMANN y WERR.—Biochem. Zeitschr., 241, 108, 140 y 181, 1931.
 KREBS.—Biochem. Zeitschr., 220, 289, 1930.
 LI.—Amer. Soc., 67, 1.065, 1945.
 MERTEN.—Gastroenterología, 76, 244, 1949.
 MILHAUD y EPINEY.—Gastroenterología, 77, 193, 1951.
 RONA y KLEIMANN.—Biochem. Zeitschr., 241, 283 y 316, 1931.
 RAMER.—Cit. BUCHS.
 WISS.—Helv. Chim. Acta, 29, 237, 1946.

SUMMARY

The influence of H_2S and KCN on the gastric cathepsin activity was studied. The first substance induces activation of constant degree with crystalline pepsin, and of variable degree with the various juices. Inactivation was detected only when a stopped test-tube was used. On the other hand, KCN always gave rise to inactivation in high concentrations; it did not induce inactivation when high dilutions were used. Inactivation was detected even when increasingly high dilutions of the enzyme were prepared; it increased with temperature.

That action of cyanide does not nullify the view that gastric protease II should be regarded as a cathepsin. It all points to the importance that other factors present in the juice may have on the activity of this enzyme.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird der Einfluss des SH_2 und des CNK auf das Magenkathepsin untersucht. Das erste führt mit kristallisiertem Pepsin zu einer Aktivierung von gleichmässiger Intensität, während in den verschiedenen Säften die Grade der Aktivierung veränderlich sind; eine Inaktivierung konnte nur bei geschlossenem Rohr beobachtet werden. Das CNK in starker Konzentration erzeugt hingegen immer eine Inaktivierung, nicht aber wenn es sehr verdünnt ist. Diese Inaktivierung kann sogar bei steigender Verdünnung des Fermentes beobachtet werden und nimmt mit Anstieg der Temperatur zu.

Die Annahme, dass die II Magenprotease eine Kathepsin sei, erleidet durch diese Zyanidwirkung keinen Abbruch. Alles weist auf einen Einfluss anderer im Saft bestehender Faktoren auf die Wirksamkeit des Fermentes hin.

RÉSUMÉ

On étudie l'influence du SH_2 et du CNK sur l'activité de la catepsine gastrique. Le premier, produit une activation d'intensité constante avec pepsine cristallisée, et de degré variable dans les différents jus. On n'apprécie qu'une seule inactivation agissant en tube fermé. Par contre, le CNK produit toujours une inactivation à haute concentration, et non s'il est dilué. Cette inactivation s'apprécie même en faisant des dilutions croissantes du ferment, et augmente avec la température.

Cette action du cyanure n'invalide pas de considérer la II protéase gastrique comme une catepsine. Tout fait penser à l'importance que peuvent avoir d'autres facteurs existant dans le jus, sur l'activité du ferment.

EMPLEO DE LA HYDERGINA EN EL TRATAMIENTO DEL ESTADO DE MAL EPILEPTICO (*)

M. PAREJO.

Servicio de Hombres del Sanatorio Psiquiátrico Provincial de Tenerife.

El problema terapéutico de la epilepsia en su aspecto farmacológico evoluciona hoy hacia puntos de vista racionales deducidos de las investigaciones fisiopatogénicas sobre las que poco a poco se va injertando una utilización de los medicamentos cada día menos empírica y más eficiente.

La farmacología de nuestro tiempo nos ha dotado de una brillante serie de sustancias an-

(*) Comunicación a la Real Academia de Medicina de Tenerife. Sesión del día 24 de abril de 1956.