

INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA

## Acción de la obscuridad y la luz sobre la hipófisis del sapo

El poder melanofo-ro-dilatador de los extractos de hipófisis

POR EL PROFESOR ADJUNTO: DR. JULIO N. MASSELIN

En investigaciones anteriores Jores y colaboradores (1-2) encontraron que la oscuridad aumentaba la acción melanofo-ro-dilatadora de la sangre de conejos; las hipófisis de lauchas mantenidas en la oscuridad presentaban aumento del poder pigmento expansor. Utilizaban como reactivo la piel aislada de ranas, por considerarlas más sensible que el animal vivo (3). Tomando como reactivo la retina (4) observaban también que los extractos de hipófisis de ranas sometidas a la oscuridad provocan la disposición de los pigmentos como en el ojo sometido a la oscuridad.

Contrariamente a estas opiniones Koller y Rodewald (5) afirman que en las hipófisis de rana de oscuridad desaparece la acción melanofo-ro-dilatadora, la que aparecería a los pocos minutos de sometidas a la acción de la luz; que las hipófisis de ranas ciegas se comportan como aquellas de la oscuridad; que las glándulas de ranas ciegas, a las que se les excita el nervio óptico se comportan como aquellas de iluminadas, es decir, adquieren poder pigmento expansor; acción esta que aumentaría (6) progresivamente de ondas largas a cortas, dependiendo la acción del estímulo eléctrico de la intensidad del mismo.

En vista de estos resultados contradictorios hemos tratado de establecer por nuestra parte si existe o no una relación entre el factor luz y oscuridad y la acción melanofo-ro-dilatadora de los extractos de hipófisis de sapos, *Bufo arenarum*, del mismo sexo (machos) sometidos a la oscuridad e iluminados continuamente sobre fondo blanco, comparando su acción con los extractos obtenidos de hipófisis de sapos normales.

Como reactivo hemos tomado sapos hipófisoprivos operados con anterioridad variable entre 15 días a 3 meses (los que se compor-

taron del mismo modo) formando lotes del mismo sexo y lo más semejantes posible en cuanto a su coloración; de 100 a 115 gramos de peso; reservando de cada lote testigos para la comparación de los cambios de coloración.

Los extractos utilizados han consistido en macerados en solución fisiológica, previo desmenuzamiento en un mortero de hipófisis totales de sapos machos; haciéndose las soluciones de acuerdo al peso de las glándulas.

Las inyecciones se practicaron en el saco dorsal, en cantidad de 1 c.c. de macerado por cada 100 gramos de peso vivo del sapo reactivo, pesados previa extracción de la orina.

La observación de la expansión de los melanoforos ha sido en todos los casos macroscópica, dándose como resultado positivo solo aquellos casos en que el cambio de color con respecto al testigo no admitía dudas, aunque no llegaran al oscurecimiento de la piel comparable a los sapos normales.

La observación se prolongó siempre por espacio de cuatro horas por lo menos; sin embargo, las mejores observaciones se han obtenido entre media y una hora después de inyectados los extractos.

Las experiencias se efectuaron siempre en forma simultánea para toda clase de extractos, y ellas se extendieron en una primera serie en los meses de Junio, Julio y Agosto de 1937 y una segunda serie en los meses de Octubre, Noviembre, Diciembre de 1937 y Enero de 1938, de manera que tenemos resultados con hipófisis de invierno y con hipófisis de verano.

Nuestros resultados fueron los siguientes:

#### EXPERIMENTACION CON HIPOFISIS DE INVIERNO

a) *Hipófisis de sapos normales*: Los macerados mostraron acción melanoforo-dilatadora hasta el título máximo de 1 por 80.000, o sean 12,5 gammas de glándula; la acción desaparecía a las 2 horas.

b) *Hipófisis de sapos iluminados*: Los sapos cuyas glándulas sirvieron para nuestra experiencia fueron sometidos a la acción continuada de la luz de dos lámparas de 40 Wats sobre fondo blanco a distancia de 40 cms. durante 24 horas, 3, 7, 13, 20 y 28 días.

Las hipófisis de sapos de 24 horas, 3 y 7 días, mostró una acción comparable a aquella de las hipófisis normales, es decir, un título hasta 1 por ochenta mil, pero en los sometidos a 13, 20 y 28 días se observó una disminución de la acción melanoforo-dilatadora

desde que sus extractos mostraron actividad solamente hasta título de 1 por cincuenta mil, o sea 20 gammas.

c) *Hipófisis de sapos de obscuridad*: Utilizamos glándulas de sapos sometidos durante 24 horas, 3, 7, 14, 20, 66 y 100 días a completa obscuridad y sacrificados en la obscuridad o con iluminación poco actínica (Luz roja).

En las hipófisis de sapos de 24 horas, 3 y 7 días no se mostró cambios netos en cuanto a la potencia de su acción melanofo-dilatadora, pero a partir de los 14 días de obscuridad las hipófisis comienzan a mostrar un aumento en su acción melanofo-dilatadora, pues sus macerados se muestran activos hasta el título de 1 por 100 mil, o sean 10 gammas.

A los 66 días de obscuridad el título de la solución activa se extiende en forma neta hasta 1 por 200 mil o sean 5 gammas, pero este título no pudo ser sobrepasado aún con hipófisis de sapos mantenidos hasta 100 días a la obscuridad. La acción pigmento expansora en estos últimos casos era bastante pasajera (desaparecía a la 1 1/2 horas), mientras que con las soluciones al 1 por 100 mil era apreciable aún a las 3 o 3 1/2 horas.

#### EXPERIMENTACION CON HIPOFISIS DE VERANO

En los meses de Octubre, Noviembre, Diciembre y Enero repetimos estas experiencias con vistas de establecer también si la misma acción se ejercía en épocas distintas del año y comprobamos que la hipófisis de sapos de primavera y verano se comportaban así:

a) *Hipófisis de sapos normales*: El título máximo al que pudimos llegar fué el de 1 por 50 mil (20 gammas) en algunos casos, mientras que en otros sólo era de 1 por 25 mil (40 gammas). Es decir, estas hipófisis se comportaban en forma irregular.

b) *Hipófisis de sapos iluminados*: En las hipófisis de sapos sometidos durante 11 y 18 días a la acción de la luz, el título más alto de las soluciones fué de 1 por 25 mil, o sean 40 gammas. Los de menos permanencia, 1, 3 y 7 días, se comportaron como los normales.

c) *Hipófisis de sapos de obscuridad*: Las glándulas de sapos de 11 y 18 días de obscuridad se mostraron activas hasta el título de 1 por 80 mil, o sean 12,5 gammas. Los de menos permanencia, 1, 3 y 7 días, se comportaron como las glándulas de sapos normales.

Con el fin de establecer si estas variaciones de la acción melanofo-ro-dilatadora de las hipófisis se deben a la acción del reflejo oculopituitario con punto de partida retiniano, provocado por la luz o la obscuridad, efectuamos también experiencias con sapos ciegos, con ciegos con el nervio óptico excitado y con ciegos que permanecían con fuerte luz sobre la cabeza. Koller y Rodewald (5) dicen que las hipófisis de los ciegos se comportan como aquellas de los sometidos a la obscuridad, vale decir, según estos autores, con poder pigmento expensor disminuido, que las hipófisis de ciegos a los que se les excita eléctricamente o por iluminación el nervio óptico se comportan como los iluminados, es decir, con poder pigmento expensor aumentado.

Nuestras experiencias se efectuaron en verano (mes de Enero) y he aquí los resultados obtenidos:

a) *Hipófisis de sapos normales*: Su máximo título de actividad fué de 1 por 50 mil, o sean 20 gammas.

b) *Hipófisis de sapos ciegos*, mantenidos a luz difusa del laboratorio. Estas glándulas fueron de sapos a los que se les enuclearon los ojos 16 días antes de extraer las glándulas. Su acción melanofo-ro-dilatadora llegó a manifestarse hasta con macerados del título de 1 por 80.000 a los 16 días, o sean 12,5 gammas de glándula.

c) *Hipófisis de los sapos ciegos e iluminados* con fuerte luz sobre la cabeza, producida por una lámpara de 40 Wats a una distancia de 25 cms. Para que la luz siempre irradiara sobre la cabeza, los sapos eran colocados en bocales estrechos. La acción melanofo-ro-dilatadora de los extractos de sus hipófisis se comportó como las de sapos normales, es decir: fueron activas hasta el título de 1 por 50 mil, o sean 20 gammas. La luz seguramente excita en este caso directamente los filetes del nervio óptico.

d) *Hipófisis de sapos ciegos con nervio óptico excitado eléctricamente*: A los 15 días de enucleados sus ojos, durante los 5 días previos a su sacrificio y extracción de la glándula, se les excitaban sus nervios ópticos durante un minuto cada uno (total 2 minutos) con una corriente suministrada por dos pilas secas que pasa por la bobina de Dubois-Raymond con el carrete alejado 5 cms.

La acción melanofo-ro-dilatadora de estas glándulas se manifestó solo hasta el título de 1 por 10 mil, o sean 100 gammas de glándula.

\*  
\* \* \*

Según Jores (3) la extracción alcalina de los principios pigmentos expansores de las hipófisis de rana dá un extracto 10 veces más

activo que la simple extracción por el Ringer; por nuestra parte en todas las experiencias relatadas anteriormente hemos utilizado para la extracción la simple solución fisiológica de cloruro de sodio al 8/1000, pero en un nuevo conjunto de experiencias hemos comparado si había o no diferencias entre los extractos con solución fisiológica y los extractos acuosos (agua destilada) y extractos obtenidos tratando las glándulas desmenuzadas con pequeñas cantidades de solución

H Na n/10 (10 mgs. de glándula, 1 c.c. de solución H Na n/10) y luego extendidas hasta los diferentes títulos con agua destilada. Los resultados que hemos obtenido no han diferido en ningún caso, pues trabajando con hipófisis de sapos normales el título máximo de las soluciones activas llegó solamente al 1 por 50 mil o sea el título máximo que obtuvimos siempre en las experiencias de los meses de primavera y verano.

\*

\* \*

También hemos tratado de establecer si la sangre de los sapos mantenidos en diferentes condiciones luminosas (normales, luz continua y obscuridad) era capaz de producir cambios de coloración en la piel de los reactivos (sapos hipofisoprivos) para lo cual operamos de la manera siguiente:

Recogimos de 6 sapos machos 30 c.c. de sangre en todos los casos, de sapos normales, de obscuridad y de luz, incoagulada por adición de citrato de sodio.

A sapos hipofisoprivos de 120 grs. de peso le extraímos por la aorta abdominal primero 3 c.c. de su sangre y por la vena abdominal le inyectábamos 5 c.c. de sangre citratada, a los 10 minutos volvíamos a sacar 5 c.c. de sangre esta vez y las sucesivas y la reemplazábamos por 5 c.c. de nueva sangre citratada, de manera que en una hora, pasaban por el organismo de los sapos hipofisoprivos los 30 c.c. de sangre a experimentar. En ninguno de los casos estudiados, sea con sangre normal, con sangre de sapos en obscuridad (60 días) o de iluminados (60 días), obtuvimos el más mínimo cambio en cuanto a la dilatación de los melanóforos cutáneos. Estas experiencias muestran que la cantidad de hormona melanoforo-dilatadora contenida en la sangre de 6 sapos no es suficiente para producir con su pasaje por el organismo de un sapo hipofisoprivo en el término de una hora ninguna modificación en su pigmentación.

De igual manera se comportó la sangre inyectada en la cantidad de 5 c.c. por cada 100 - 120 grs. de peso en el saco dorsal de sapos hipofisoprivos.

#### CONCLUSIONES

1º Comparando los resultados obtenidos con hipófisis totales de sapos machos de invierno y de verano mantenidos en las condiciones normales de los laboratorios, se llega a establecer que aquellas de sapos de invierno (días cortos, luz solar poco actínica) poseen acción melanóforo-dilatadora más desarrollada que las de verano (días largos, luz solar más actínica).

2º Las hipófisis de sapos mantenidos en la oscuridad adquieren a partir de los 11-14 días mayor acción melanóforo-dilatadora. Esta acción aumenta gradualmente hasta un punto dado.

3º Las hipófisis de sapos machos mantenidos con iluminación continua sobre fondo blanco, a partir de los 11-14 días muestran disminución de la acción melanóforo-dilatadora.

4º Las hipófisis de sapos machos ciegos se comportan exactamente igual que aquellas de sapos sometidos a la oscuridad completa, esto es, su acción melanóforo-dilatadora aumenta.

5º En sapos ciegos una luz artificial que actúa fuertemente sobre la cabeza, excita los filetes del nervio óptico de la misma manera que la luz natural lo hace sobre la retina.

6º La excitación de los cabos periféricos del nervio óptico, por medio de la corriente eléctrica, reemplaza la acción de la luz. Sus hipófisis se comportaron en líneas generales como aquellas de las iluminados continuamente.

7º Las extracciones acuosa, alcalina y por medio de solución fisiológica de cloruro de sodio al 8/1000 se comportaron en nuestras experiencias, exactamente igual.

8º La sangre circulante de sapos sometidos a diversas condiciones luminosas, no contiene suficiente hormona melanóforo-dilatadora como para producir cambios de coloración en la piel de sapos hipofisoprivos.

BIBLIOGRAFIA

1. JORES A., *Klin Woch.* Año 1933, pág. 1599.
2. JORES, A. y HOELTJE, K., *Zeitsch. f. vergl. Physiol.* Año 1936, t. 23, pág. 571.
3. JORES, A., *Klin Woch.* Año 1935, pág. 1713.
4. JORES, A. y CAESAR, K. G., *Pflugers Arch.* Año 1935, t. 235, pág. 724.
5. KOLLER, G. y RODEWALD, W., *Pflugers Arch.* Año 1933, t. 232, pág. 637.
5. RODEWALD, W., *Zeitsch. f. vergl. Physiol.* Año 1935, t. 21, pág. 767.