UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

"LOS 17-CETOESTEROIDES URINARIOS NEUTROS EN LA MUJER"

Trabajo de Tesis

para optar al grado de

DOCTOR EN BIOQUIMICA Y FARMACIA

por

ANGEL GUTIERREZ

1 9 5 7

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA
BIBLIOTECA

A MIS PADRES

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA
BIBLIOTECA

LOS 17- CETOESTEROIDES NEUTROS EN LA MUJER

INTRODUCCION

En los últimos años la importancia de las adrenales como glándulas de secreción interna, se ha acrecentado extraordinariamente. Mediante sus múltiples hormonas de acción diversa ejercen efectos importantísimos sobre las funciones metabólicas, el estado de varios órganos y los mecanismos generales de defensa - - frente a los agentes agresivos. Es tal su importancia que Albright, ha llegado a decir, que solamente conociendo la Fisiología Corticoadrenal, puede llegarse a saber Medicina (Calladol, 1953).

El número de hormonas que estas glándulas liberan, especialmente por su porción cortical, es alrededor de treinta y el valor que tienen en el organismo es tal, que la vida sin ellas no es posible (Gebauer y Linko, 1951; Cullen, 1956; Rusinovich y Caffer, 1956).

Los 17-cetoesteroides son considerados como compuestos derivados del metabolismo de muchas de esas hormonas secretadas por la zona cortical de las glándulas adrenales.

Estos compuestos son desde el punto de vista químico, esteroides que llevan en el Carbono 17, una función cetona. Considerando que este grupo de compuestos tiene en la mujer un origen exclusivamente cortico-adrenal, los tenores de 17-cetoesteroides hallados en su orina, pueden representar un índice de indiscutible valor en el funcionamiento de dicha glándula endocrina.

La determinación de hormonas o de productos derivados de su metabolismo orgánico ha sido siempre tarea que ofrece dificultades. La orina constituye un material que presumiblemente - contiene hormonas o sus productos metabólicos, en cantidades proporcionales, a las que actúan en la sangre y en el organismo. En el caso de los 17-cetoesteroides, que se eliminan por la orina -

tanto en el hombre como en la mujer, la orina es el reflejo de la sangre (Del Castillo y Rospide, 1950), de manera que su determinación puede aportar datos de real interés fisiológico y clínico.

Kelly (1956) dice que la medida de los esteroides urinarios, es mucho más empleada que la medida de los esteroides de la sangre. Las razones para esto son bastante claras: 1) es mucho más fácil obtener muestras de orina; 2) las concentraciones de esteroides son más elevadas en la orina que en la sangre y por consiguiente más fáciles de medir y 3) las medidas de los esteroides urinarios reflejan la excreción esteroide total en un período de horas y no en un momento dado.

Debe consignarse no obstante, que los datos hallados en el presente trabajo, como todos los referidos al contenido hormonal de la orina, sangre y tejidos de individuos sanos o enfermos, son de valor significativo, cuando se los considera en relación con el estado fisiológico del individuo sano en el momento de la prueba, o con la historia clínica, hallazgos semiológicos y otros datos de laboratorio en casos patológicos. De todo esto se deduce que hay pocas pruebas que considerados por separado de los síntomas puedan ser usados con propósito diagnóstico (Freed Ch. S., 1941). En el caso de los 17-cetoesteroides esto también se cumple, debiendo recordarse que existen para su determinación gran diversidad de métodos, con algunas variaciones en las cifras obtenidas.

Teniendo en cuenta todas estas consideraciones nos proponemos, en el presente trabajo, hacer primero una revisión general de la Nomenclatura y Estructura química de todos los Esteroides ya que no podemos enfocar el estudio de los 17-cetoesteroides aisladamente de los compuestos que les dieron origen. Poste-

riormente nos referiremos a la Biogénesis de estos compuestos en el organismo, que en el caso de la mujer como ya dijimos anteriormente es fundamentalmente córtico adrenal; a la Anatomía, Histología, Embriología y Fisiología glandular, como así también a su relación con la Hipófisis. Para por último referirnos al Metabolismo, Excreción y Determinación de estos compuestos. Elegido un método de Dosaje que nos dé valores comparables, determinaremos en la mujer las cifras que representan la excreción urinaria en diversos estados fisiológicos, para por último comparar estos valores de la mujer sana con los obtenidos en la mujer afectada por diversos estados patológicos.

Las determinaciones urinarias del presente trabajo fueron realizadas en el Laboratorio de la Cátedra de Anatomía y Fisiología Comparada de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad Nacional de La Plata y en el Laboratorio de la IIa. Cátedra de Clínica Médica de la Facultad de Ciencias Médicas, con material urinario proveniente de personas sanas de sexo femenino y en enfermas de los siguientes servicios hospitalarios de esta ciudad:

Hospital de Niños: Salas Ia., IIa. y IIIa.

Instituto General San Martín:

Servicio de Clínica Médica: Dr. M. Estiú

Servicio de Clínica Médica, Sala IIIa.: Dr. F. Schaposnik.

Servicio de Nutrición, Endocrinología y Sala Ia.: Dres. A. Cabarrou y H. Caino.

Instituto de Maternidad y Escuela de Parteras: Sala IIIa. y Consultorios Externos.

Hospital Español: Servicio de Clínica Médica del Dr. L.F. Cueza Rodríguez.

Mi agradecimiento al Prof. Dr. Ricardo E.Millán, que accedió al padrinazgo de esta Tesis, como así también mi gratitud y agradecimiento a los Sres. Profesores Dr. A. Marenzi, Z. Lugones y F. Schaposnik por sus enseñanzas y orientaciones brindadas en el curso de este trabajo.

CAPITULO I

LOS 17-CETOESTEROIDES. DEFINICION. NOMENCLATURA Y ESTRUCTURA QUIMICA.-

Con el nombre de 17-Cetoesteroides se designa químicamente a a uelbs esteroides que poseen en el Carbono 17, del - núcleo fundamental ciclopentano-perhidro fenantreno, una función cetona.

Son substancias provenientes del metabolismo de - las hormonas sexuales y de la corteza adrenal, que se eliminan - por la orina.

Algunos de ellos tienen carácter fenólico ácido, mientras que otros son neutros. A nosotros nos interesa la determinación de estos últimos ya que en la mujer los 17-cetoesteroides neutros, tienen un origen exclusivamente córtico-adrenal, que se demuestra porque en ólla, la ovariectomía, no modifica su excreción en la orina, mientras que en la enfermedad de Addison, que representa una disfunción de la glándula adrenal, no se excretan practicamente (Marenzi y col., 1947).

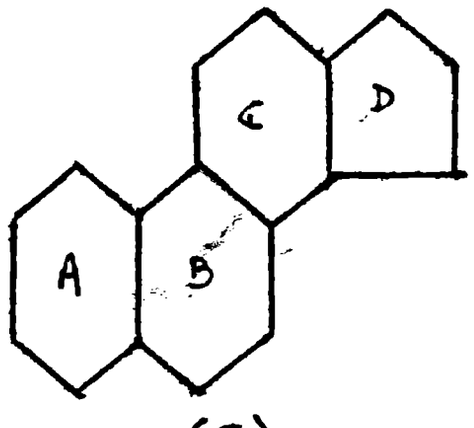
Químicamente todos estos compuestos pueden considerarse derivados de un hidrocarburo polifíclico saturado, el llamado ciclopentano, perhidro fenantreno (Acevedo y Atria, 1950). Han sido denominados esteroides, nombre propuesto por primera vez por Callow y Young (1936).

Dentro de los esteroides están comprendidas las - hormonas sexuales masculinas y femeninas y las de la corteza adrenal. A su vez los esteroides entran a formar parte de una familia química mucho más amplia, cuya denominación general es la de Esteroles, en la que se incluyen también el Colesterol, el Estigmasterol, los Acidos Biliares, las Agluconas de la digital y los Estr-

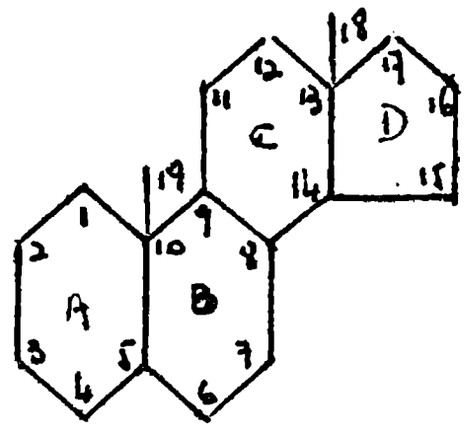
fantus, las Geninas de los venenos de los sapos, las Saponinas, algunas vitaminas del grupo D, los Hidrocarburos Cancerígenos,etc.

El año 1932 marca una fecha importante en el estudio de la estructura de estos compuestos. Según Marrian (1950), Windaus, Wieland y col., son los primeros en establecer la similitud existente entre la estructura química de las hormonas sexuales, corticosdronales y ácidos biliares. Windaus, Jacobs y col., vinculan esas estructuras con la de los venenos cardíacos de origen vegetal o glucósidos cardiotónicos.

Bernal (1932), publica sus observaciones sobre el examen cristalográfico del Ergosterol por los Rayos X. Los resultados de estas observaciones eran difíciles de conciliar con el tipo de sistema de anillos propuesto por Wieland y Windaus y en consecuencia Rosenheim y King (1933) estudian nuevamente el problema, dilucidando finalmente la estructura de los esteroides, - que con las modificaciones propuestas por Wieland y Dane (1932), es hoy día universalmente aceptada (I y II) conociéndose también por esta razón como fórmula de Rosenheim-Wieland (Karrer, 1946).



(I)



(II)

NOMENCLATURA:

Es conveniente hacer notar que el ciclo pentano (anillo D), puede estar unido al fenantreno (anillo A,B,C) de varios modos con la consiguiente obtención de diferentes tipos de ciclopentanos fenantrenos.

Los compuestos que nos interesan como dijimos an-

teriormente, pueden considerarse derivados del ciclo pentano perhidro-fenantreno o noreatrano.

El prefijo perhidro, significa que el ciclo pentano fenantreno, que es un hidrocarburo no saturado, ha sido completamente reducido con el hidrógeno.

Todos los esteroides aislados a partir de la corteza adrenal poseen uno o dos grupos metílicos en sustitución de los átomos de hidrógeno correspondientes a los carbonos 10 y 13 (C - 10 y C - 13). Estos grupos metílicos se denominan metilos angulares, debido a su posición en el ángulo formado por la unión de dos anillos, designándose sus respectivos átomos de carbono - con los números 18 y 19. El primero corresponde al C - 13, mientras que el segundo se halla unido el C - 10.

La introducción de uno o dos grupos metílicos angulares da origen a varios hidrocarburos, tres de los cuales, el Pregnano, el Androstano y el Etiocolano pueden considerarse como precursores directos de los Esteroides Corticales (Calladel, 1953).

Otros esteroides han recibido nombres empíricos, que se conservan por razones de costumbre, como Androsterona, Progesterona, etc. (Acevedo y Atria, 1950).

Para indicar las sustituciones realizadas en el núcleo esteroidal, se usan Prefijos y Sufijos.

El número que indica la posición de los carbonos en el anillo, precede generalmente a los prefijos y sufijos así lo aconseja el Chemical Abstracts y el Journal of the American Chemical Society. También aconsejan que en lo posible se siga el orden numérico del núcleo esteroidal.

Los sufijos corrientemente utilizados según Mason (1948) y Mason y Engstron (1950) son:

- ano : hidrocarburo saturado.
- eno : hidrocarburo no saturado.
- ol : función alcohólica, radical hidroxilo.
- ona : función cetona.

Los Prefijos: están representados por enlaces dobles que se indican con la letra griega delta mayúscula (Δ) (Kipnis, 1951). Las posiciones de estos dobles enlaces, están dadas por los números colocados como exponentes de la letra Δ. En los casos en que un mismo átomo tiene uniones dirigidas a 2 carbonos diferentes, se indica el número del átomo del carbono terminal - como en el caso del carbono 8, que puede tener un doble enlace con el C - 9 y el C - 14.

Siempre que se tiene el prefijo Δ, existirá en la nomenclatura el sufijo eno, que indica el carácter de no saturado del compuesto cuando existan dos, tres o más enlaces dobles, el nombre del hidrocarburo fundamental terminará en diono, trieno, etc. Tenemos así, por ejemplo el Δ^5 - Androsteno; la Δ^4 - Pregneno-3, 20 diona; la Δ^{3-5} Androstadieno - 17 - ona y la $\Delta^{1-3-5:10}$ - Estratrieno, 3 - ol - 17 - ona, conocido generalmente con el nombre de estrona.

Otro prefijo es hidroxi, que significa función alcohólica o hidroxilo. Es equivalente al sufijo ol. De manera que una misma substancia puede denominarse: 3-Hidroxi-pregnano o Pregnano 3-ol.

Keto: indica función cetona o carbonilo. El sufijo equivalente es ona. Como dijimos en el caso anterior una substancia se puede denominar: 3-keto-pregnano o sino: pregnano-3-ona.

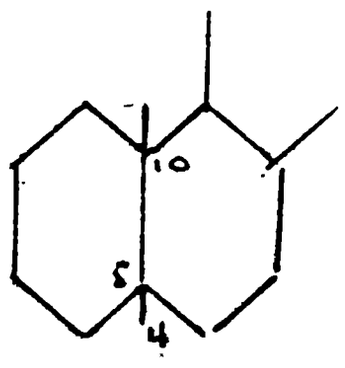
Oxi: significa también función cetona o carbonilo. Usándolo la substancia anterior se llamará: 3-oxi-pregnano.

Allo: es un prefijo que en la nomenclatura de los

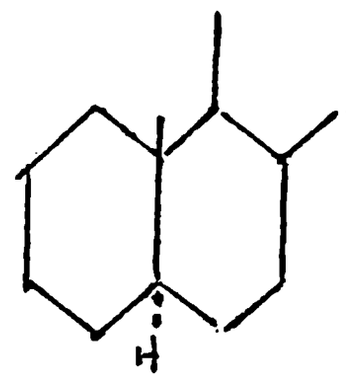
esteroides indica un tipo de <u>isomería geométrica</u> que puede presentarse entre el hidrógeno del carbono 5 y el metilo del carbono 10.

Cuando los anillos saturados están unidos en forma que tienen dos átomos de carbono comunes a ambos anillos, son posibles dos isómeros, según que el átomo de hidrógeno, unido al carbono común, esté en el mismo plano (posición <u>cis</u>) o en el plano opuesto (posición <u>trans</u>) con respecto al grupo metilo en posición 10, que se supone colocado por encima del plano (Wolyo, 1949).

En el primer caso se representan los substituyentes unidos al ciclo, por un trazo contínuo, y en el segundo por un trazo punteado.



<u>Posición Cis</u>



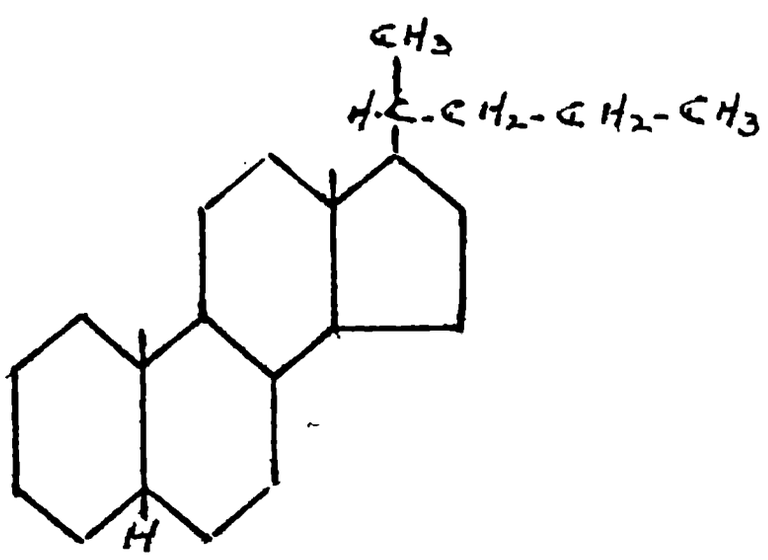
<u>Posición Trans</u>

(Se indica con el prefijo <u>Allo</u>)

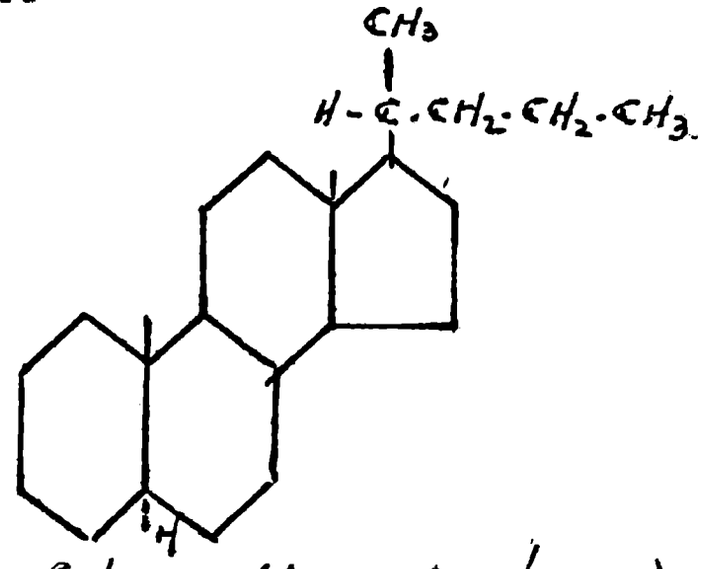
Se trata de un tipo de isomería geométrica y comprende los átomos de carbono angulares de los anillos saturados del núcleo policíclico de los esteroides. Esos átomos con los C - 5; C - 10; C - 8 y C - 9; C - 13 y C - 14 comunes a ambos anillos. Cada uno de estos átomos de carbono está provisto de un átomo de hidrógeno o bien de un grupo metílico (metilos angulares) y la situación relativa de cada uno de estos puede determinar dos isómeros. De ello resulta que el número de isómeros posibles es igual a $2^6 = 64$. Afortunadamente este tipo de isomería

en los esteroides corticales y en las hormonas esteroides en general, está limitado solamente al carbono 5.

En el hidrocarburo colano, que constituye el esqueleto de los ácidos biliares el radical metilo en el C - 10 y el hidrógeno en el C - 5, se consideran colocados en el mismo plano del anillo: isomería cis . Cuando el átomo de hidrógeno del C - 5 está en el plano opuesto al metilo del C - 10, se crea la isomería trans y el esteroide resultante se llama allo-colano



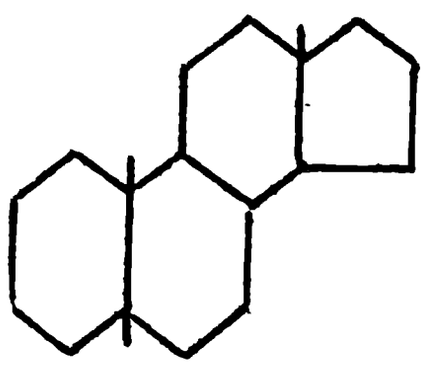
COLANO (posición cis)



ALLO-COLANO (posición trans)

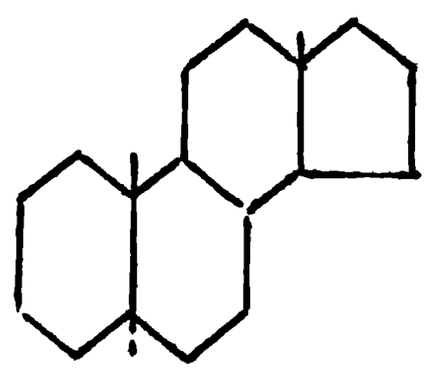
En los esteroides naturales, los grupos metilos en C - 10 y 13, arbitrariamente, se admite que se encuentran en un plano anterior al de los anillos, o sea en posición cis, representándose siempre sus líneas de unión con un trazo contínuo (Caballol, 1953).

Etio: Es otro de los prefijos que se usa en la química de los esteroides. Indica que el compuesto de referencia es el más simple que se puede obtener por degradación de la forma más compleja, conservando el sistema cíclico y las características químicas fundamentales de las substancias en cuestión. Así por ejemplo si en el colano y allo-colano, se elimina la cadena lateral - unida al carbono 17, los esteroiden correspondientes son el etio colano y el etio allo colano, siendo este último conocido con el nombre de androstano.



ETIO COLANO

(posición Cis)

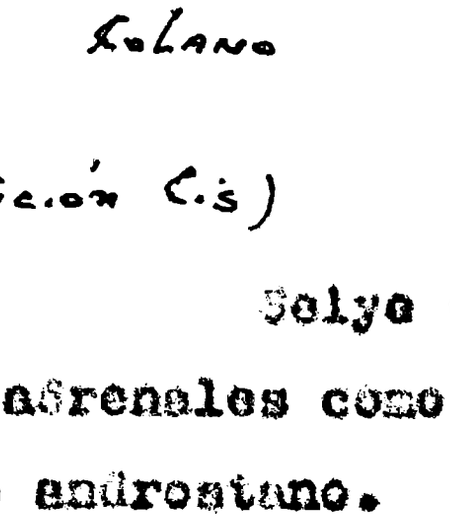


ETIO. ALLO COLANO o ANDROSTANO

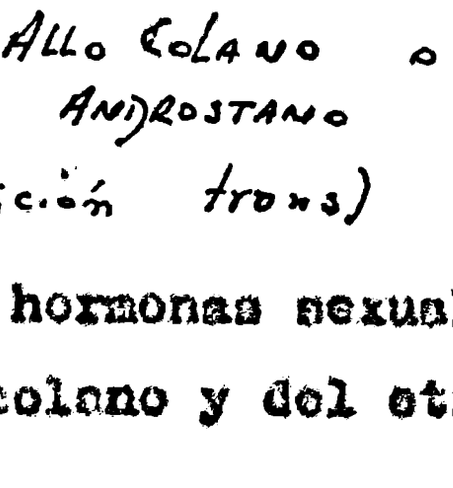
(posición trans)

Selye (1949), nombra a las hormonas sexuales y cortico adrenales como derivadas del etio-colano y del etio-allo-colano o androstano.

Acevedo y Atria (1950), dicen sin embargo que es mucho más conveniente el nombrar algunos compuestos como derivados del pregnano y allo-pregnano que son los 17-etil derivados del etiocolano y del etio-allo colano o androstano respectivamente.



PREGNANO
17-Etil- etiocolano
(posición Cis)

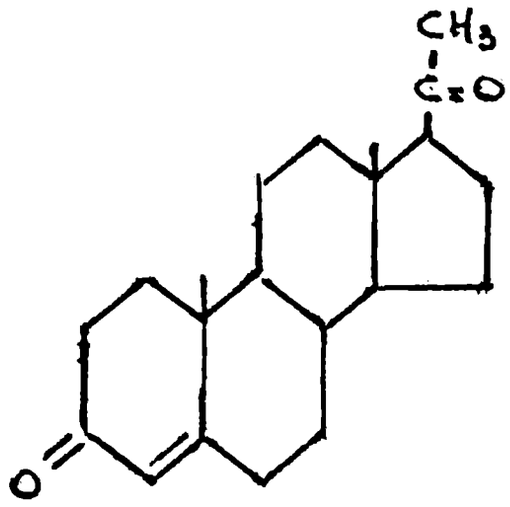


ALLO. PREGNANO
17- Etil - androstano
(posición trans)

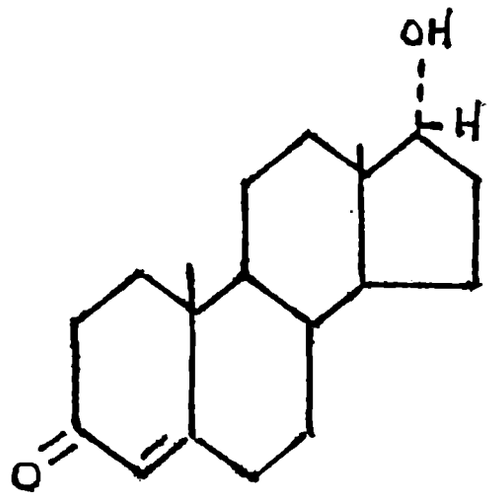
Cuando entre los C - 4 y C - 5, existe una doble ligadura, desaparece el hidrógeno del C - 5, suprimiéndose en esta forma este tipo de isomería. Ejemplos de compuestos que poseen dobles enlaces entre los C - 4 y C - 5, tenemos en la progesterona y testosterona. Por esta circunstancia es que el Δ^4-allo pregnano es igual al Δ^4- pregnano.

La doble ligadura también puede existir entre los

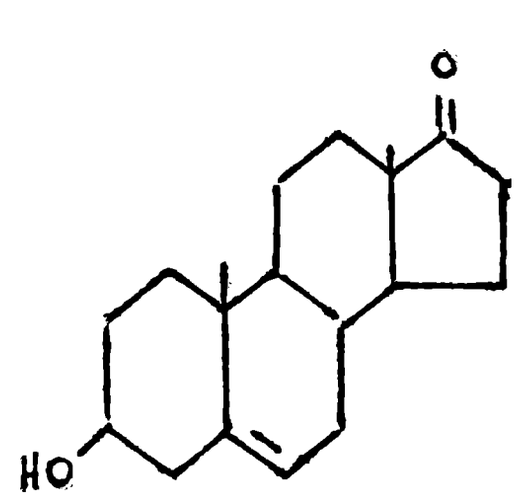
C - 5 y C - 6 como en el caso de la dehidroisoandrosterona, en este caso también se elimina la posibilidad de isomería en el C - 5.



Progesterona



Testosterona



Dehidroisoandrosterona

Otra forma importante de isomería en la que afecta a los radicales de substitución alcohólico (grupos hidroxilos) y a la cadena alifática. Esta forma de isomería se realiza en los C -3 C - 11, C - 17 y C - 20. En C - 3, C - 11 y C - 17 las dos valencias libres del átomo de carbono, está de tal modo dispuestas que una se dirige por encima y la otra bajo el plano de los anillos. De manera que cuando se reemplaza un átomo de hidrógeno por un hidroxilo por ejemplo, el hidroxilo puede situarse por encima o por debajo del plano de los anillos, originándose en esta forma dos compuestos diferentes. Ahora bien los dos grupos metilos angulares se consideran colocados en el mismo lado del sistema y por convención al estar sobre el plano se representan en la proyección de ésto, acostumbrándose a referir la configuración de todos los substituyentes a uno u otro metilo.

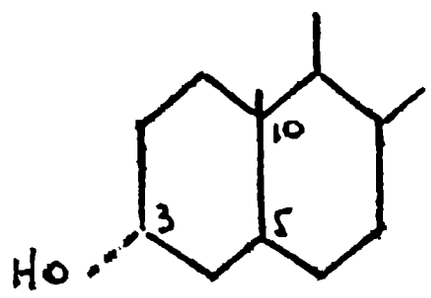
Cuando los substituyentes, sean hidroxilos o cadenas alifáticas, se hallan en el plano opuesto de los grupos metilos (posición trans) se dice que el compuesto tiene la configuración α. Cuando se hallan en el mismo plano (posición cis) el compuestotendrá la configuración β.

Esta configuración espacial, puede indicarse con

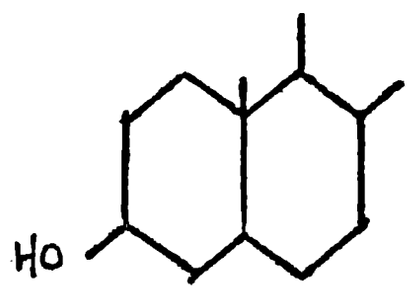
las partículas mencionadas (cis, trans) o bien añadiendo las letras α y β , representadas entre paréntesis, a continuación del número correspondiente al átomo de carbono.

La letra α que indica como dijimos la posición "trans", se representa en la fórmula por una línea punteada.

La letra β que indica posición "cis" se representa con un trazo contínuo.



3 (α) hidroxi

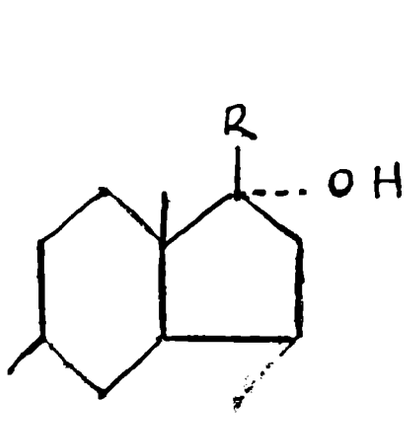


3 (β) hidroxi

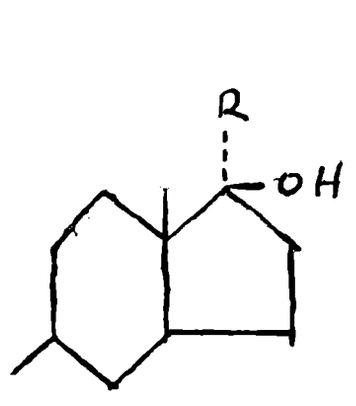
Las letras griegas α y β también se han utilizado para la esteroisomerías que se plantean en el carbono 20, no de carácter geométrico, sino de rotación libre (Santos Ruiz, 1951).

De los varios centros de asimetría presentes en el anillo esteroidal, el del C - 17 es particularmente interesante en conexión con los esteroides adrenales.

Reichstein y Shoppee (1943), sugieren la siguiente representación en la cual como anteriormente, una línea punteada indica una posición bajo el plano del anillo.



17 (α) HIDROXI

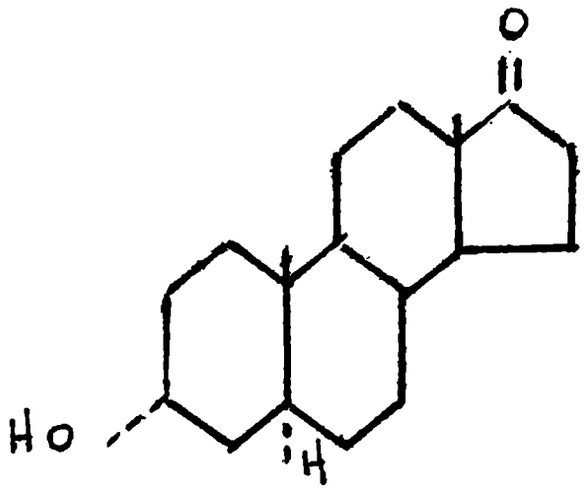


17(β) HIDROXI

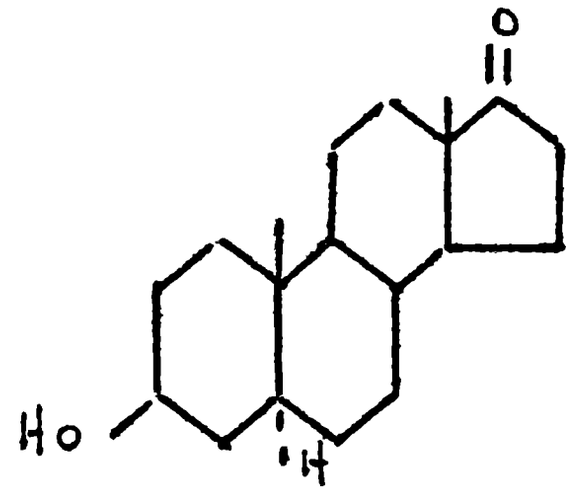
En los esteroides corticales, este tipo de isomería solo involucra a los radicales alcohólicos unidos a los anillos o a la cadena alifática. El grupo etílico del pregnano y del allo-pregnano, se halla siempre en posición β (cis). Los isómeros con la cadena etílica en posición α (trans) no existen en estado natural. Se los ha obtenido por síntesis pero son menos activos y más inestables que los compuestos naturales de la corteza adrenal.

Otro tipo de isómeros dentro de la química esteroidal, es el representado por los llamados compuestos epímeros para referirse a ellos se utilizan los prefijos "epi" e "iso".

Los epímeros son compuestos caracterizados por poseer varios centros de asimetría. Se diferencian solamente por la disposición especial de los sustituyentes de uno de los átomos asimétricos.



ANDROSTERONA



ISO-ANDROSTERONA o
EPI-ANDROSTERONA

CLASIFICACION Y ESTRUCTURA DE LOS COMPUESTOS ESTEROIDES.-

La complejidad química de los compuestos esteroideos, ha sido motivo para que distintos autores hayan ensayado diversos sistemas de clasificación, a los efectos de su mejor estudio.

Schiller (1948) ha propuesto dividir los esteroides en series derivadas de un hidrocarburo cíclico saturado como base, nombrando cada serie de acuerdo con el número de átomos de

carbono de tal hidrocarburo.

Así tenemos las siguientes series:

C - 18 Esteroides

C - 19 Esteroides

C - 21 Esteroides

C - 23 Esteroides

C - 24 Esteroides

C - 27 Esteroides

Estando las hormonas sexuales, las adrenocorticales y los productos derivados de su metabolismo en los tres primeros grupos y siendo los 17-cetoesteroides, compuestos derivados de dichas hormonas, prestaremos preferente atención, al estudio de esos tres primeros grupos.

Heard (1948), Hartman y Brownell (1949) refiriéndose específicamente a los esteroides adrenocorticales hacen la clasificación, teniendo en cuenta el número de átomos de carbono y de oxígeno de los distintos compuestos.

Otro método de clasificación señalado también por Heard, se funda en la presencia o ausencia de radicales de substitución en el C - 11.

Algunos autores dividen a los esteroides corticales en dos amplios grupos, teniendo en cuenta la presencia o ausencia de un grupo hidroxilo en el C - 17. El interés de esta clasificación radica en que los 17-hidroxi-corticoesteroides se transforman en el organismo en 17-cetoesteroides y como tales,son eliminados por la orina, constituyendo su determinación, un aporte más en la elucidación del funcionamiento cortico adrenal, lo que será objeto de nuestro trabajo.

Teniendo en cuenta la existencia de una doble ligadura entre los C - 4 y 5 del anillo A y de un función cetona en el

C - 3 (3-cetoesteroides) o la ausencia de estas dos funciones, los esteroides se pueden dividir también en dos grandes grupos, debiendo señalarse que, los primeros, son más activos biológicamente, que los últimos.

La presencia o ausencia de la cadena alifática en el C - 17, puede darnos por último, otro método de clasificación de esteroides. Deberemarcarse que los esteroides que poseen dicha cadena alifática con un grupo cetónico y un hidroxilo, tienen mayor actividad que aquellos que carecen de dichas funciones.

Siguiendo a Schiller, comenzaremos nuestro estudio de los esteroides, refiriéndonos en primer término a aquellos que poseen 18 carbonos, en su estructura molecular.

C - 18 ESTEROIDES:

En la serie de los C - 18 esteroides, están incluídos todas las hormonas estrogénicas o sea un grupo de hormonas que tienen como característica la de provocar las modificaciones que acompañan al período de atracción sexual cíclica que se observa en muchos mamíferos, es decir las modificaciones propias del "estro" o "período de celo".

Estos compuestos han recibido el nombre de estrógenos, foliculinas, hormonas foliculares o folículoides y sus efectos específicos se califican de estrogénicos, foliculares o folículoides.

Marrian (1950) publica una interesante reviata histórica referente a los conocimientos que sobre este tipo de compuestos han llegado hasta nuestro días. Dice Marrian que uno de los primeros trabajos sobre este tema fué el realizado por Allen, y Doisy en 1923, que se refería al ensayo biológico de las hormonas ováricas estrogénicas. En 1927 Aschheim y Zondek, descubren la presencia de altas cantidades de material estrogénico en la orina

de mujer embarazada. Después de estos trabajos se comenzó a considerar la posibilidad de aislar al estado puro, el principio activo de la orina, antes mencionada, hecho que se llevó a cabo a fines de 1929 y comienzos de 1930. Esa substancia que hoy conocemos como FOLICULINA, fué aislada de la orina de mujer embarazada en forma de cristales casi puros, con muy poca diferencia de tiempo por Doisy y col., por Butenandt y por Dingemanse y col.

Unos pocos meses más tarde un segundo estrógeno cristalino posteriormente conocido como ESTIOL fué aislado por Marrian y por Doisy y col.

A pesar de las grandes dificultades encontradas al trabajar con cantidades muy pequeñas de estrógenos cristalinos, se hicieron rápidos progresos en diferentes laboratorios en la tarea de elucidar sus estructuras; Rosenheim y King en 1932, estudian la fórmula de un nuevo ácido biliar esteroide y contemplaron junto con otros investigadores la posibilidad de que los estrógenos fueran también derivados del ciclo pentenoperhidrofenantreno. Esto se confirmó cuando Butenandt, Weidlich y Thompson en 1933, probaron que los estrógenos eran derivados fenantrénicos.

Una prueba definitiva de la estructura de los estrógenos naturales fué obtenida durante los años 1934, 1935, principalmente como resultado del brillante trabajo de Cook y Girard (1934); sin embargo el problema no hubiera podido ser tan rápidamente resuelto a no ser por dos descubrimientos iniciales de la mayor importancia a los cuales se les debe rendir tributo. En 1930 Zondek había demostrado que la orina de yeguas preñadas era una fuente más rica de material estrogénico que la orina de mujeres embarazadas y poco después Girard y otros, habían ideado métodos simples para obtener estrógenos cotónicos puros de esta ori-

gen, con elevado rendimiento, usando ciertos nuevos reactivos cetónicos, por ellos descubiertos. La descripción completa de estos nuevos reactivos, no fué publicada hasta 1936. Pero ya en 1932 Girard había preparado grandes cantidades de estrona pura y dos nuevos estrógenos cetónicos EQUILENINA y EQUILENINA. Algo más tarde Girard, suministró a Cook, cantidades considerables de estos estrógenos cetónicos puros, pudiéndose en esa forma dilucidar rápidamente los restantes problemas estructurales.

Quizás el resultado más notable de todo este trabajo inicial referente a las substancias estrogénicas fué el aislamiento del α-EQUILENINOL, a partir del "líquido folicular" de cerdos. Este aislamiento fué realizado por Doisy y col. en 1935. Este estrógeno sumamente potente había sido obtenido previamente por Schwenk y Hildebrandt en 1938, a partir de la estrona, por reducción de su grupo cetónico. Es interesante consignar que Doisy y col. para obtener unos pocos miligramos de substancia cristalina identificable debieron tratar unos cuatrocientos litros aproximadamente de líquido folicular.

Kober (1931), descubre una reacción colorcada muy sensible y específica para la identificación de los estrógenos naturales, siendo este un hecho de gran importancia ya que condujo al desarrollo de un gran número de métodos útiles para la determinación colorimétrica de estrógenos de orinas de embarazadas humanas y equinas. Estos métodos han sido muy empleados para seguir la excreción de estrógenos durante todo el embarazo y puede decirse que sin estos métodos colorimétricos el aislamiento de glucuronidato de estriol de la orina de mujer embarazada y del sulfato de estrona de la orina de yegua preñada se hubiera demorado considerablemente. Debemos también agregar que en muchos laboratorios no-

diante el uso de estos métodos, se sigue el metabolismo de los estrógenos urinarios en las embarazadas en las distintas etapas de la gestación, aunque como consigna Levin (1951), el método de Kober y sus modificaciones, que en una revisión reciente se enumeran alrededor de diez y seis, ofrece serias objeciones, sobre todo por su falta de especificidad y poca sensibilidad, que involucra el uso de grandes cantidades de orina para las determinaciones, especialmente en el caso de mujeres no embarazadas. Esas grandes cantidades de orina aumentan las dificultades que surgen de la presencia de substancias contaminadoras o impurezas no estrógénicas.

En 1948 Friegood y col., describen un método, que consiste en la determinación de la absorción de la luz ultravioleta para los compuestos estrogénicos.

Todo un verdadero hallazgo en el campo de las investigaciones sobre estrógenos fué el realizado por Jailer (1947-48), y Bates y Cohen en los mismos años, según el cual la foto- - fluorimetría puede ser aplicada a las determinaciones de estrógenos.

En lo que respecta a los progresos realizados en el campo de la química orgánica de estos compuestos, diremos que en los años 1939-1940, se realizó la primera síntesis total de un esteroide natural, lo que fué logrado por W.E. Bachmann y col. - quienes prepararon la EQUILENINA y sus 3 estereoisómeros, a partir del 7-metoxi-1 ceto,1,2,3,4, tetrahidrofenantreno, por un procedimiento de 12 etapas. Este trabajo fué efectuado con cuidado y atención escrupulosa y partiendo de 10 g. de material se obtuvieron 5 g. de productos estereoisómeros.

Heard y Hoffman (1941), comunican el aislamiento en la orina de yegua preñada de la $\Delta^{5\text{-}7\text{-}9}$-estratrienol-3-ona-17.

Riescher (1944) publica un interesante trabajo so-

bre constitución y síntesis de derivados altamente activos de hormonas estrogénicas y posteriormente Anner y Miescher (1948) comunican la síntesis de la ESTRONA.

Fieser y Fieser (1949) y Fieser (1950) publican importantes trabajos sobre la química de los esteroides. Demuestran que en el α-ESTRADIOL isómero natural de más bajo punto de fusión, el grupo 17-hidroxilo tiene en realidad una configuración β. Por tal razón los autores sugieren escribir "α" entre comillas, para señalar que tal prefijo no indica una posición espacial sino que se conserva solamente por razones de costumbre. De la misma manera deducen que la testosterona natural posee también dicho grupo en posición β.

Miescher y col. (1948) han obtenido a partir de la estrona un producto cuyos derivados son también de gran actividad biológica, el ACIDO DIENOLICO, cuya característica es la ruptura del anillo D.

ESTRUCTURA QUIMICA:

Los estrógenos son compuestos que derivan de un hidrocarburo hipotético: el ESTRANO, que posee el anillo A y a veces el A y el B de carácter no saturado o de tipo bencénico. Nemezov (1936) dice que las acciones estrogénicas de la hormona folicular, se deberían a la presencia de dicho anillo no saturado.

Los estrógenos son compuestos que carecen de metilo en el carbono 10.

El carácter aromático del anillo dá a la función hidroxilo en el carbono 3, las propiedades de un fenol, con características débilmente ácidas, por lo que producen reacciones coloreadas con los ácidos fenol sulfónicos (Reacción de Kober).

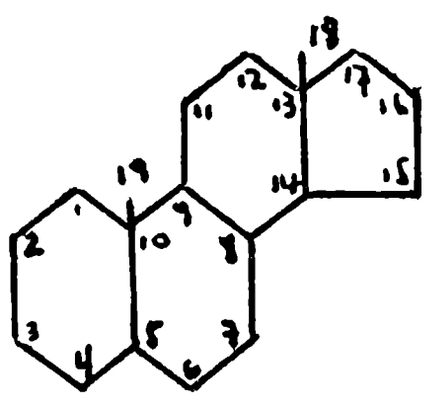
Los principales estrógenos en orden decreciente de

actividad biológica son:

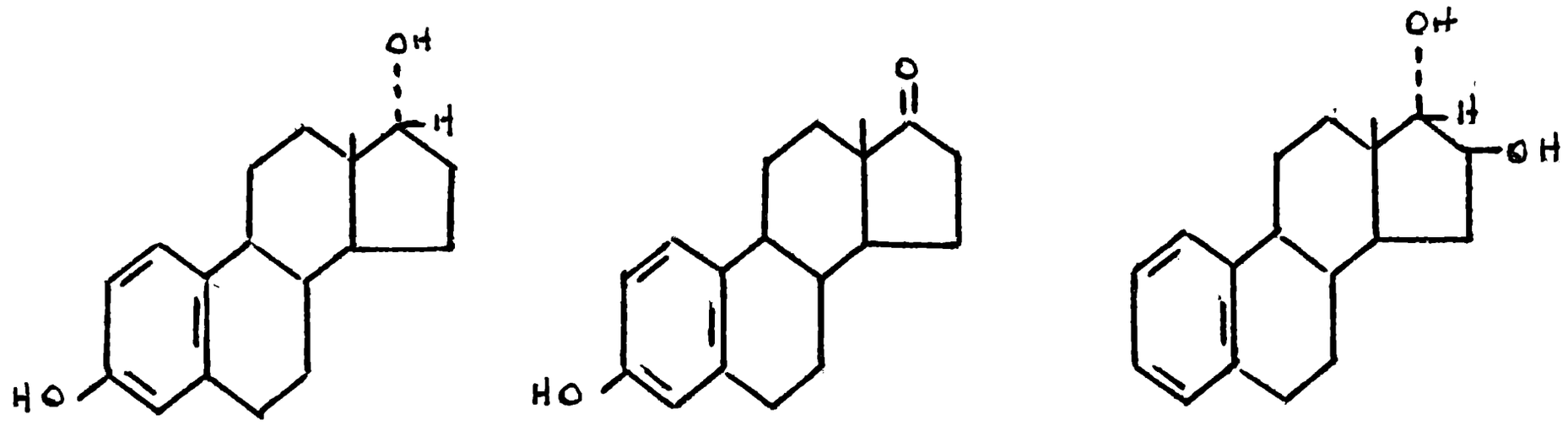
<u>α-ESTRADIOL</u>

<u>ESTRONA</u>

ESTRIOL



<u>ESTRADIOL</u>



<u>α ESTRADIOL</u> <u>ESTRONA</u> <u>ESTRIOL</u>

El <u>α-Estradiol</u> se lo conoce también como "hormona" dehidrofolicular".

La <u>Estrona</u> tiene como sinónimos: Menformona (Laqueur); Proginona (Butenandt); Theelina (Doisy); Cetohidroxiestrina; Feminina; Amniotina; Hormona Folicular; Hormona Ovárica y Folículina (Zondek).

El <u>Estriol</u>, es también conocido como hidrato de hormona folicular; Emmenina y Theelol.

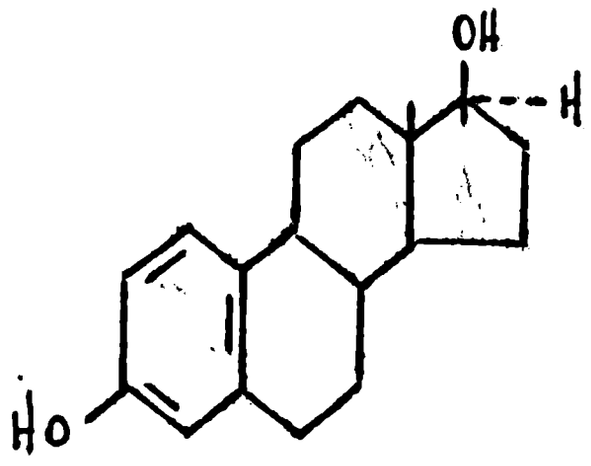
TABLA I

ESTEROIDES DE CARACTER ESTROGENICO

Fórmula Empírica	Nombre sistemático	Nombre empírico	Fuentes de origen
$C_{18}H_{18}O_2$	d-$\Delta^{1,3,5:10-6,8:9}$-estrapentaeno-3-ol-17-ona	d-Equilenina	orina de yegua preñada
$C_{18}H_{18}O_2$	l-$\Delta^{1,3,5:10-6,8:9}$-estrapentaeno-3-ol-17-ona	l-Equilenina	
$C_{18}H_{18}O_2$	d-$\Delta^{1,3,5:10-6,8:9}$-estrapentaeno-3-ol-17Oona	d-Isoequilenina	
$C_{18}H_{18}O_2$	l-$\Delta^{1,3,5:10-6,8:9}$-estrapentaeno-3-ol-17-ona	l-Isoequilenina	
$C_{18}H_{20}O_2$	$\Delta^{1,3,5:10-6,8:9}$-estrapentaeno-3,17(α)diol	α-Dihidroequilenina	
$C_{18}H_{20}O_2$	$\Delta^{1,3,5:10-6,8:9}$-estrapentaeno-3,17(β)diol	β-Dihidroequilanina	orina de yegua preñada
	$\Delta^{1,3,5:10-6,8:9}$-estrapentaeno-11,17 diona	3-Desoxi-11 cetoequilenina	orina de yegua preñada
$C_{18}H_{20}O_2$	$\Delta^{1,3,5:10,7}$-estratetraeno-3-ol-17-Ona	Equilina	orina de yegua preñada
$C_{18}H_{20}O_2$	$\Delta^{1,3,5:10}$estratrieno-3-ol-17-ona	Estrona	orina de hombre, de caballo, de buey, de mujer embarazada y de yegua preñada.
$C_{18}H_{22}O_2$	$\Delta^{5:10-6,8:9}$-estratrieno-3(β)-ol-17 ona	Folículo-esterona	orina de yegua preñada
$C_{18}H_{24}O_2$	$\Delta^{1,3,5:10}$-estratrienc-3,17(α)-diol	α-estradiol	orina de mujer embarazada y de yegua preñada
$C_{16}H_{24}O_2$	$\Delta^{1,3,5:10}$-estratrieno-3,17(β)-diol	β-estradiol	orina de yegua preñada
$C_{18}H_{24}O_3$	$\Delta^{1,3,5:10}$-estratrieno-3,16(β),17(α)-triol	Estriol	orina de mujer embarazada
	Estrano-3(?),17(α)-diol	Estranodiol B	
	Estrano-3(?),17(?)-diol	Estranodiol A	

El α-Estradiol

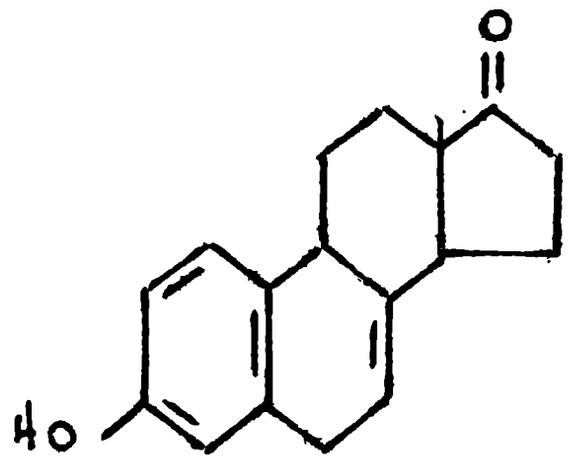
posee un isómero que es el β-Estradiol, difiere del anterior en que el hidroxilo del C-17, se encuentra en el mismo plano que el metilo del C-13.



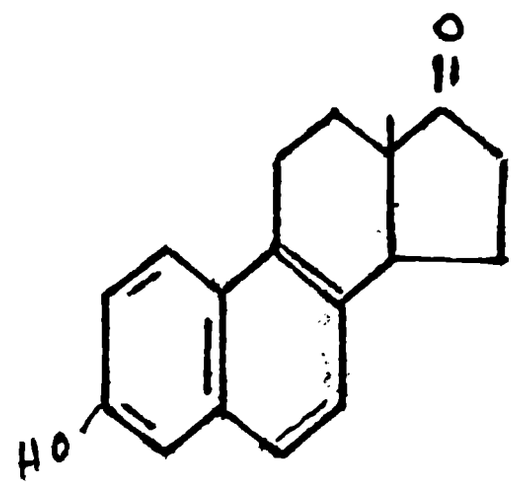
α ESTRADIOL

Según los trabajos ya citados de Fieser y Fieser, este compuesto, sería la verdadera hormona natural.

En la orina de yeguas preñadas han sido aisladas, la Equilina y la Equilenina.



EQUILINA



EQUILENINA

Brown J. B. (1955), describe un método de valoración química de Estradiol, Estrona y Estriol, en la orina humana y estudia la excreción diaria a través de 8 ciclos aparentemente normales. Establece que la relación entre Estradiol y Estrona es aproximadamente constante 1:2 y que no hay relación constante entre el Estriol y los otros estrógenos. La excreción de Estriol, según - - Brown, es generalmente más alta que la de los otros dos a través de todo el ciclo. Según dicho autor las cifras excretadas son bajas en la 1er. semana del ciclo, se elevan alrededor del 7º día y adquieren su máximo en el momento de la ovulación. Posteriormente la ex-

creción de estrógenos decrece. Se produce una elevación en la fase lutéínica en el 21º día y entonces decrece otra vez antes de la - - menstrucción.

Gulak y Zimmermann (1955), estudian la excreción de esteroides fenólicos durante el ciclo menstrual, en la orina de - - tres mujeres jóvenes, hallando una cifra media de 0,6 a 0,8 mgs. en las 24 horas, con un máximo en la mitad del ciclo.

Considerando que los compuestos que nos interesan en el presente trabajo son los 17-Cetoesteroides, es decir compuestos esteroidales con 19 carbonos, deberíamos referirnos a ellos, siguiendo el orden creciente del número de carbonos, pero dejaremos para el final su estudio, ya que son, dentro de los esteroides, - - aquellos a los que dedicaremos nuestra preferente atención y además porque representan, productos de excreción, resultantes del metabolismo de las hormonas gonadales y también de aquellas secretadas - por la corteza adrenal.

Continuaremos entonces, antes de iniciar el estudio de los C-19 Esteroides, con los C-21 Esteroides.

C-21 ESTEROIDES:

Pertenecen a esta serie, todos los esteroides derivados de los hidrocarburos Pregnano y Allo-Pregnano, que como hemos visto anteriormente son los 17-Etil derivados del Etiocolano y del Etio-Allo-Colano o Androstano respectivamente.

Dentro de los C-21 Esteroides están la Progesterona o Lutoína y sus derivados.

Según Marrian (1950), Corner y Willard Allen (1928) fueron los primeros en demostrar que en el cuerpo lúteo, existía un principio activo, capaz de producir cambios progestacionales en el

ficro. Seis años más tarde se aisló este principio activo como una substancia pura, cristalina y este hallazgo fué informado casi simultáneamente por cuatro grupos diferentes de investigadores: Butenandt y col., por Willard Allen y Pinterotelnor, por Slotta y col. y por Hartmann y Wettstein.

La hormona así hallada por acuerdo general fué denominada "Progesterona" que demostró ser una dicetona no saturada de fórmula $C_{21} H_{30} O_2$. Se vió así claramente que esta hormona poseía un esqueleto de carbono tetracíclico, e inmediatamente se evidenció la probabilidad de que fuera un derivado ciclo-pentano fenantrénico, semejante a los estrógenos y andrógenos. A los pocos meses su estructura fué completamente dilucidada por Butenandt y col. a partir de un esterol vegetal el Estigmasterol, e independientemente por Fernholz y también por Butenandt y Schmidt, quienes participan para su preparación de un esteroide urinario inactivo fisiológicamente, el Pregnanodiol.

El Pregnanodiol más tarde, iba a asumir un papel de relativa importancia en la historia de la progesterona. Había sido aislado originariamente de la orina de embarazada en 1929 y se había demostrado que era un dihidroxialcohol-saturado. Su fórmula molecular correcta fué establecida poco después por Butenandt, quien también demostró su relación estructural con los ácidos biliares.

El posible significado bioquímico del Pregnanodiol, obscuro en un principio, se aclaró tan pronto se estableció en 1934, la naturaleza química de la Progesterona y su fórmula molecular. Los hechos estudiados indicaban claramente, la posibilidad de que el Pregnanodiol fuera un producto de reducción metabólica de la progesterona y la dilucidación de la estructura de la última por su preparación en el laboratorio al partir del Pregnanodiol, confirmó

esta probabilidad. En ese entonces se consideraba la posibilidad de que la progesterona sufría una reducción en el cuerpo, cuando Hartmann y Loeher demostraron que el Pregnanodiol que se elimina en la orina de embarazada, está acompañado de un esteroisómero en el C-5, el Allo-Pregnanodiol.

Poco después Browne y Venning (1936) demostraron la relación metabólica entre la Progestorona y el Pregnanodiol y que, este último compuesto se encuentra en la orina de mujer embarazada como un complejo con el ácido glucurónico. Aislaron este compuesto como una sal de sodio cristalina.

Posteriormente Venning (1937) creó un procedimiento para la investigación cualitativa del pregnanodiol glucuronidato de sodio, en la orina humana. Usando este método Venning y Browne demostraron que durante el ciclo menstrual, el pregnanodiol es eliminado en la orina, solamente durante la faz lútea. Hicieron también en evidencia que la administración de progesterona en mujeres en las que se suponía no existía cuerpo lúteo, era seguida por una aparición de pregnanodiol en la orina.

Este trabajo de Venning y Browne no solo estableció la relación metabólica entre la progesterona y el pregnanodiol, sinó que pareció suministrar por primera vez un método capaz de evaluar en forma aproximada la producción endógena de progesterona en el cuerpo. El valor de este método fué inmediatamente apreciado por obstetras y ginecólogos y en la actualidad las determinaciones de pregnanodiol se emplean comúnmente.

El método de Venning (1937) sufrió modificaciones que lo han hecho más exacto, así Woolf, Viergiver y Allen (1942), modifican la técnica. Algo análogo hacen Astwood y Jones (1941); Talbot, Ryan y Wolff (1943).

Todos estos métodos análogamente al de Vonning son de carácter gravimétrico. Hay también métodos volumétricos como el de Allen y Viergiver (1941) y colorimétricos como el de Talbot y col. (1941).

Las determinaciones de este compuesto producto de excreción de la progesterona son de gran valor para la obstetricia y ginecología (Cocumilla, 1954).

Guterman (1945), investiga pregnanodiol,urinario, para el diagnóstico del embarazo.

Piccioni (195) dosa el contenido urinario de Pregnanodiol en 3 pacientes afectadas de mola hidatiforme donde encontró cifras altas. En embarazos normales halla 14 a 78 mgs. en 24 hs. ras, entre el 1er. y 5° mes de embarazo.

Michio (1953), dosa pregnanodiol en 16 mujeres entre la 10a. y 24a. semana de embarazo y en 16 mujeres desde la 24a. semana, hasta el término del embarazo, las que mostraron en todos los casos variaciones individuales en la excreción urinaria.

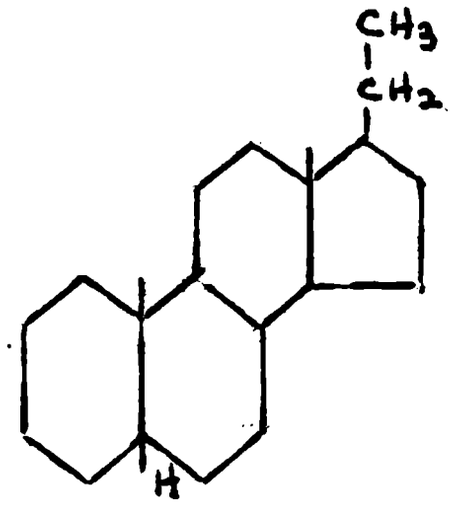
Trollo (1959) hace un estudio experimental y clínico de la excreción urinaria de Pregnanodiol, en mujeres normales y después de la inyección de Progesterona. En otro trabajo en el mismo año, dosa Pregnanodiol en amenorreas antes y durante el tratamiento con gonadotroginas, como así también en ciertos embarazos patológicos.

Zacutti (1959) hace un estudio de la eliminación urinaria de pregnanodiol, seguida de la administración de Testosterona, en embarazos normales, encontrando una disminución de los 17-cetoesteroides y un aumento en el pregnanodiol excretado, lo que se atribuye a la posible transformación de los andrógenos en progesterona, debido a la actividad del cuerpo lúteo.

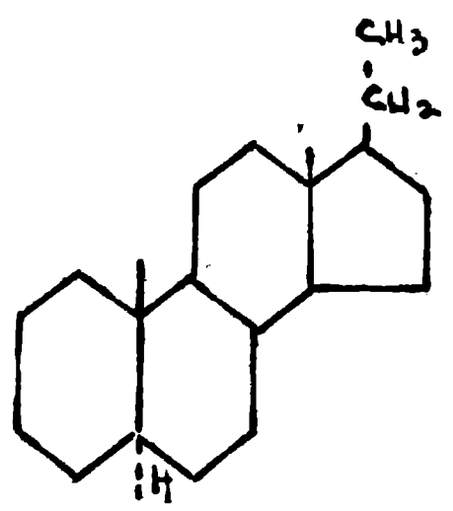
Finalmente Berglin (1955), mide la exoreción urinaria de pregnanodiol en 102 casos de amenaza de aborto, encontrando, que cuando la exoreción fué por lo menos de 5 mgs. en 24 horas, en el 79 % de los casos el embarazo llegó a término. Cuando dicha exoreción fué inferior a los 5 mgs./24 horas, el aborto ocurrió en el 89 % de los casos.

En lo que respecta a la Estructura Química, dijimos que estos compuestos derivan de los hidrocarburos Pregnano y Allo-pregnano, es decir de hidrocarburos con 21 átomos de carbono.

Se les conoce frecuentemente con el nombre de "Progestinas" o "Compuestos luteoideos".



Pregnano

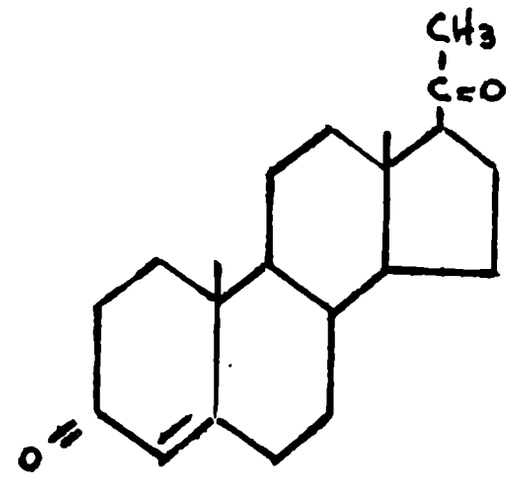


Allo-Pregnano

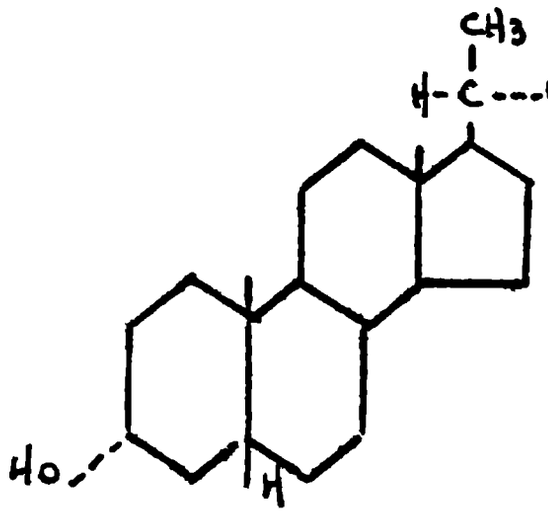
A la Progesterona, le corresponde el nombre sistemático de: Δ^4-Pregneno-3,20-diona.

Su metabolito principal es el Pregnano-3(α),20(α)-diol, encontrado con relativa abundancia en la orina y que a menudo recibe el nombre de Pregnano-diol o Pregnandiol.

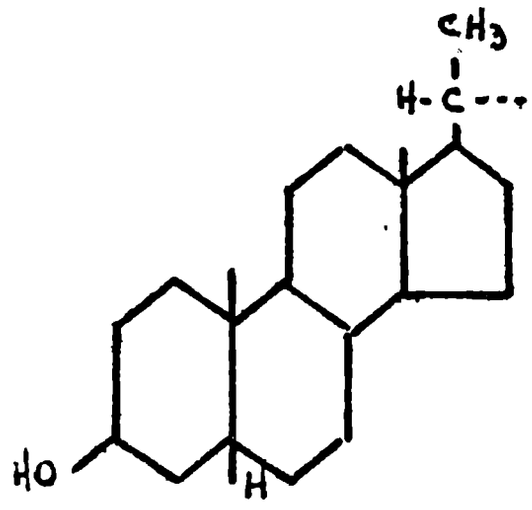
El Pregnano-3(β),20(α) diol, que se halla en pequeña cantidad en la misma fuente, es tal vez, también, un metabolito de la progesterona.



Progesterona



Pregnanodiol



Pregnano-3(β),20(α)diol

Según Nemozov (1936) la acción fisiológica de la Progesterona se debería a la existencia en su estructura de un doble enlace entre los C-4 y C-5.

El Pregnanodiol se encuentra en la orina de mujer, vaca, yegua preñada y toro. También en la fase secretora del ciclo en la mujer y durante la gestación.

El Allo-pregnano 3(α),20(α)diol,(I), se ha encon-

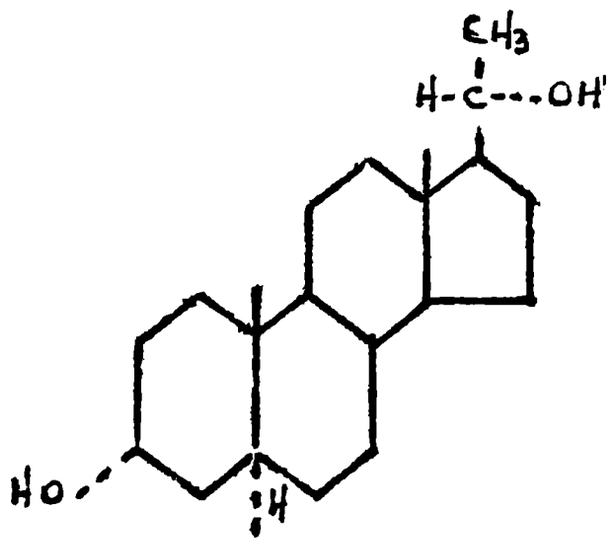
trado en la orina de mujer, vaca y yegua embarazada. En la orina de mujer normal, potro y toro.

El Allo-pregnano 3(β),20(α) diol,(II), se ha encontrado en la orina de mujer embarazada y en la orina del toro.

El Pregnano-3(α)ol, 20-ona, es también un metabolito de la progesterona, que recientemente ha sido encontrado, constituyendo una fracción apreciable de glucuronidato sódico pregnano diol en la orina de mujer embarazada y cerdas preñadas.

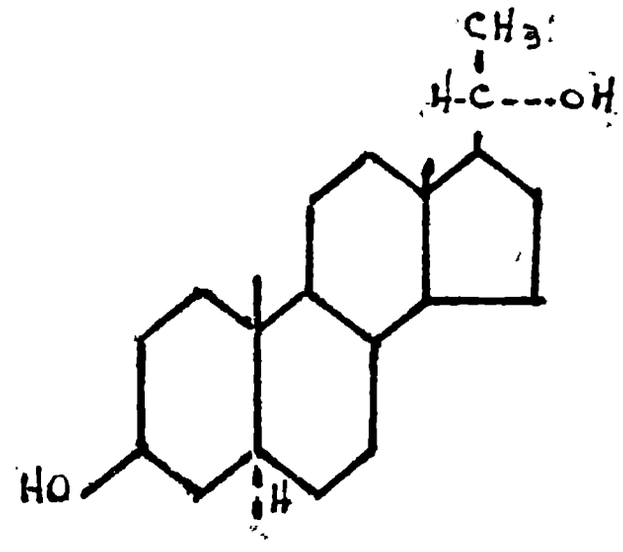
La Pregnenolona o Δ^5-pregneno-3(β)-ol, 20 ona,(III) ha sido aislada de los testículos de cerdo.

La Pregnenolona guarda estrecha semejanza estructural con la cortisona, constituyendo a la vez un precursor químico de la progesterona en cuyo proceso de síntesis constituye el penultimo estadío y de la desoxicorticosterona. Esta similitud con importantes esteroides ha dado lugar a especulaciones acerca de su posible convertibilidad "in vivo", o a su probable papel en el organismo como substancia intermediaria en el metabolismo de dichos esteroides (Schapozník y Gutierrez, 1951 y 1952).



(I)

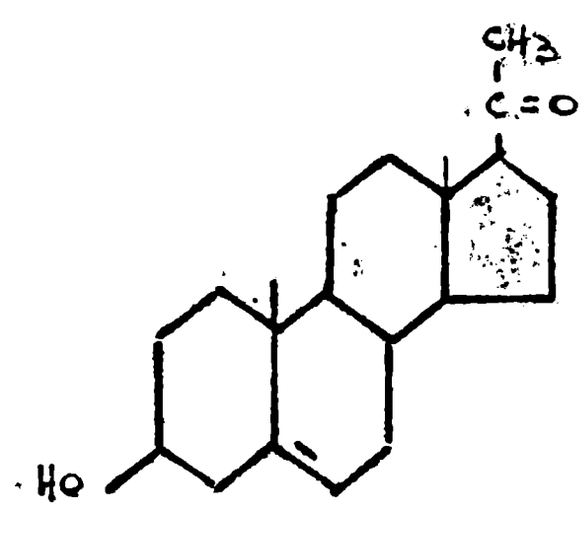
Allo-Pregnano
3(α),20(α)diol



(II)

Allo-Pregnano
3(β),20(α) diol

Ver TABLA II.



(III)

Pregnenolona
Δ^5-Pregneno-3(β)-ol
20-ona

Además de las Progestinas se hallan incluídas en el grupo de los C-21 Esteroides las Hormonas Corticosuprarenales.

Morrian (1950) dice que durante el período 1927-1930 los trabajos de Stewart y Rogoff; Hartman y col. y Swingle y Pfiffner, confirmaron la existencia de un principio activo en los extractos de la corteza adrenal. Dicho extracto era capaz de mantener la vida de los animales adrenalectomizados. A principios de - 1930 se hicieron tentativas para concentrar y purificar este principio activo en varios laboratorios. Kendall y col. de la clínica Mayo, informaron en 1934, el aislamiento de un preparado activo - cristalino.

Ingle (1951), señala que en el año 1934, Winterstainer, Vars y Pfiffner fueron los primeros que prepararon una fracción no cristalizada, extraordinariamente activa, a partir de las glándulas adrenales de buey. Al año siguiente Kendall y col. sugirieron que la actividad fisiológica completa de los extractos adrenales podía deberse a las acciones combinadas de una de un - - principio, mientras que Winterstainer y Pfiffner informaron el aislamiento de varias substancias cristalinas diferentes, obtenidas de tales extractos. En 1936 se publicaron varios artículos con respecto a dichos aislamientos, por Kendall y col., Winterstainer y Pfiffner y por Reichstein. Se demostró que la mayoría de estos compuestos, tenían 21 átomos de carbono, pero uno de ellos aislado - por Reichstein, la Adrenosterona, poseía 19 carbonos y estaba provisto de actividad androgénica. Esta circunstancia junto con el hallazgo de que algunos de los compuestos de C-21, podían ser degradados hasta compuestos androgénicos condujo a Reichstein y el grupo de la Clínica Mayo, a sugerir que las substancias adrenocorticales, podían ser Esteroides; Reichstein poco después lo demostró ex

TABLA II

ESTEROIDES DERIVADOS DEL PREGNANO Y ALLO PREGNANO

FORMULA EMPIRICA	NOMBRE SISTEMATICO	FUENTES DE ORIGEN
	DIALCOHOLES NO SATURADOS	
$C_{21}H_{34}O_2$	Δ^5-Pregnano-3(β),20(α)-diol	Orina de yegua preñada
	DIALCOHOLES	
$C_{21}H_{36}O_2$	Pregnano-3(α),20(α)-diol	Orina de mujer,vaca y yegua preñadas orina de mujer durante la fase secretora del ciclo; orina de toro;reducción Na-EtOH,del Δ^{16}-pregneno-3,20 diona.
$C_{21}H_{36}O_2$	Pregnano-3(α),20(β)-diol	Reducción H(Pt) del pregnano-3(α)-ol-20-ona en medio ácido o neutro.
$C_{21}H_{36}O_2$	Pregnano-3(β),20(α)-diol	Reducción H(Pt) del pregnano-3-ona-20-(α)-ol en medio ácido.
$C_{21}H_{36}O_2$	Pregnano-3(β),20(β)-diol	Reducción H(Pt) del 3,20-pregnanodiona en medio ácido.
$C_{21}H_{36}O_2$	Allo-pregnano-3(α),20(α)-diol	Orina de mujer,vaca y yegua embarazadasorina de mujer,potro y toro.
$C_{21}H_{36}O_2$	Allo-pregnano-3(α),20(β)-diol	Reducción H(Pt) del allo pregnano-3(α)-ol-20-ona en medio ácido.
$C_{21}H_{36}O_2$	Allo-pregnano-3(β),20(α)-diol	Reducción Na-EtOH del Δ^{16}-allo pregneno-3,20-diona.
$C_{21}H_{36}O_2$	Allo-pregnano-3(β),20(β)-diol	Reducción H(Pt) del allo pregnano-3,20-diona en medio neutro.
	ALCOHOL - CETONAS	
$C_{21}H_{34}O_2$	Pregnano-3(α)-ol-20-ona	Orina de mujer y cerda embarazadas;hidrogenación parcial en medio neutro del pregnano-3,20-diona.
$C_{21}H_{34}O_2$	Pregnano-3(β)-ol-20-ona	Hidrogenación parcial (Pt) en medio ácido del pregnano-3,20-diona.
$C_{21}H_{34}O_2$	Pregnano-3-ona-20(α)-ol	Oxidación de C-20 ésteres del pregnano-3(α),20 (α)-diol.
$C_{21}H_{34}O_2$	Pregnano-3-ona-20(β)-ol	Oxidación de C-20 ésteres del pregnano-3(β),20(β)-diol.
$C_{21}H_{34}O_2$	Allo-pregnano-3(α)-ol-20-ona	Orina de mujer embarazadaoxidación de C-3 ésteres del allo pregnano-3(α),20(α)-diol.
$C_{21}H_{34}O_2$	Allo-pregnano-3(β)-ol-20-ona	Cuerpo lúteo de cerda y vacaadrenal de vacaorina de yegua preñadaorina de cerdadegradación del estigmaster
$C_{21}H_{34}O_2$	Allo-pregnano-3-ona-20(α)-ol	Oxidación de C-20 ésteres del allo-pregnano-3(α),20(α)-diol.
$C_{21}H_{34}O_2$	Allo-pregnano-3-ona-20(β)-ol	Oxidación de C-20 ésteres del allo-pregnano-3(β),20(β)-diol.
	DICETONAS	
$C_{21}H_{32}O_2$	Pregnano-3, 20-diona	Orina de yegua embarazada.Oxidación con CrO_3 del Pregnano-3(α),20 (α)-diol
$C_{21}H_{32}O_2$	Allo-pregnano-3, 20-diona	Orina de yegua embarazada;Oxidación con CrO_3 del Allopregnano-3(α),20 (α)-diol.

perimentalmente. Se debe consignar que durante todo este período se produjeron gran número de publicaciones a cargo de los autores antes mencionados. Y puede decirse que hacia fines de 1937 la "Cortina" o "Corticalina" (Harrow, 1946), también llamada "Interrenina" o "Cothormona" (Canadol, 1953), que era un extracto de la corteza adrenal, se suponía que debía su actividad a cuatro compuestos diferentes, pero estrechamente relacionados; la Corticosterona, la 11-Dehidro corticosterona, la 17-Hidroxi-11-dehidro corticosterona y la 17-Hidroxicorticosterona.

En los años siguientes, las investigaciones continuaron y dos nuevos compuestos fueron agregados a la lista de los que poseían actividad similar a la de los extractos de corteza adrenal o "Cortina", la 11-Desoxicorticosterona y la 11-Desoxi-17-Hidroxi-Corticosterona.

También se aislaron de dichos extractos, la Pregnenolona, la progesterona y un gran número de esteroides fisiológicamente inertes de los tipos del Δ^4-Pregneno y Allo-Pregneno.

Reichstein y col. (1939), informan que los constituyentes aislados en la corteza adrenal son 26. En un trabajo posterior de Reichstein y Kuy (1939), se eleva a 28 el número de dichos componentes.

Posteriores investigaciones, pusieron en evidencia la extraordinaria actividad de la fracción que quedaba después de separar los productos cristalizados. A esa fracción que se la denominó "amorfa" algunos autores (Canadol, 1953) le asignan el 14-30 de la actividad del extracto cortical.

Los componentes cristalinos aislados de la corteza adrenal fueron denominados con distintas letras del abecedario. Así cuando Mason, Myers, y Kendall (1936) comunicaron la obtención

del primer producto puro, dotado de actividad hormonal, lo designaron con el nombre de "Compuesto E". La misma substancia fué aislada también y casi simultáneamente por Winsteratoiner y Pfiffner, los que la denominaron "Compuesto F", y por Reichstein, quién la designó con el nombre de "Compuesto Fa". En el mismo año Reichstein, aisló su "Compuesto H", el cual en 1937, fué obtenido en estado de pureza. A partir de entonces el fraccionamiento del extracto cortical total, condujo al aislamiento de numerosos productos - netamente definidos, tanto en lo que se refiere a su composición y estructura química como a su actividad biológica.

La primera substancia hormonal de la corteza adrenal, obtenida por síntesis fué la 11-DesoxicorticosterOna, abreviadamente Doca. Su preparación fué lograda por Stolger y Kolsoestein (1937) partiendo del colesterol o del Estigmasterol.

Lardon y Reichstein, Kendall y otros autores lograron posteriormente obtener por síntesis parcial y a partir del ácido desoxicólico, otros productos hormonales.

Merece citarse en esta reseña histórica, el éxito por Hench, Kendall y col. en 1949, de la "Cortisona" o Compuesto E", en el tratamiento de la artritis reumatoidea (Donoso, 1950), por estos trabajos los autores anteriormente citados conjuntamente con Reichstein, recibieron el Premio Nobel de Medicina y Fisiología.

En los años posteriores hasta nuestros días los investigadores se abocaron a complejos problemas de síntesis y a la obtención de métodos que permitieron obtener económicamente hormonas adrenocorticales, usando materias primas de origen animal y vegetal. Fué así como la costosa Cortisona, pudo obtenerse al poco tiempo a precios razonables (Merrian, 1953).

Nos recientemente se han producido nuevos esteroides sintéticos y nuevas formas de administración de los esteroides antiguos con velocidad tan notable que se ha hecho virtualmente imposible permanecer al tanto del ritmo, de los progresos en este campo de la Bioquímica y Medicina moderna (Kelley, 1956).

En lo que respecta a la Estructura Química, dijimos ya anteriormente que alrededor de 30 hormonas esteroides han sido aisladas de la corteza adrenal en forma cristalina y dilucidada su estructura química. Son esteroides como ya adelantamos de 21 átomos de carbono, derivados del hidrocarburo pregnano. Su actividad hormonal es diversa; en tanto algunos la poseen en alto grado, otros parecen carecer de ella o poseen una actividad dudosa.

Siguiendo a Bishop (1954), para su mejor estudio estos esteroides pueden ser ordenados en cuatro grupos.

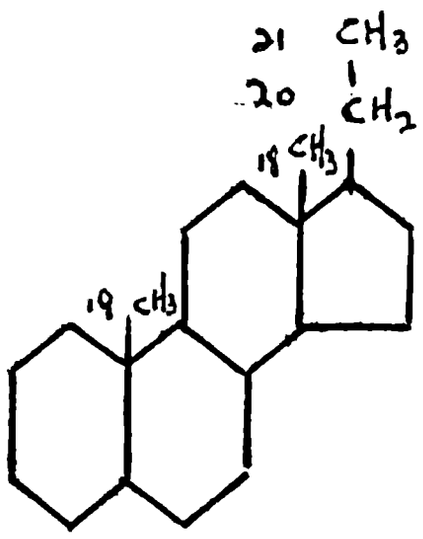
1) Esteroides del tipo de las hormonas sexuales, como los andrógenos, estrona, progesterona. Son esteroides no específicos de la corteza adrenal, pues también tienen su origen en las gonadas.

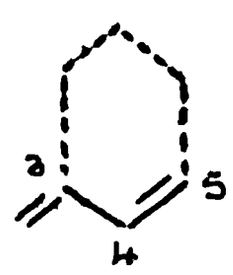
2) Un grupo de compuestos fisiológicamente inactivos, pero que se encuentran solamente en la corteza adrenal.

3) La "fracción amorfa" fisiológicamente activa, pero químicamente no identificada.

4) Los esteroides fisiológicamente activos. Son derivados del pregnano.

Los esteroides corticoadrenales poseen dos características estructurales en común. La primera es la presencia en el C-3, de un grupo cetoesteroide y de una doble ligadura entre el C-4 y el C-5.

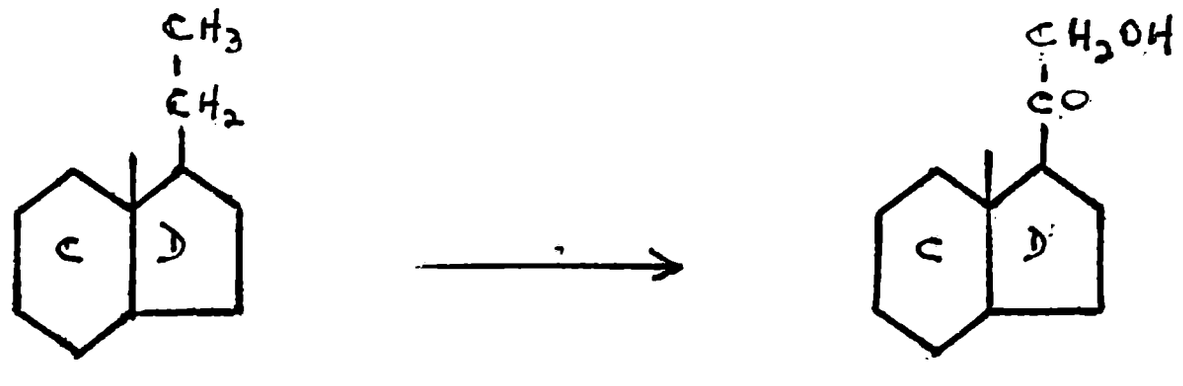




Pregnano

Esta primera característica parece ser esencial para una actividad cortico adrenal apreciable.

La segunda característica estructural es la que se produce en el C-17. En el Pregnano hay un grupo Etilo (CH_3-CH_2). En estos 6 corticosteroides fisiológicamente activos, se introduce un grupo α cetol de caracter reductor, que indica que en el C-20 el substituyente es cetónico (=O) y el substituyente del C-21, es un alcohol primario (-OH).

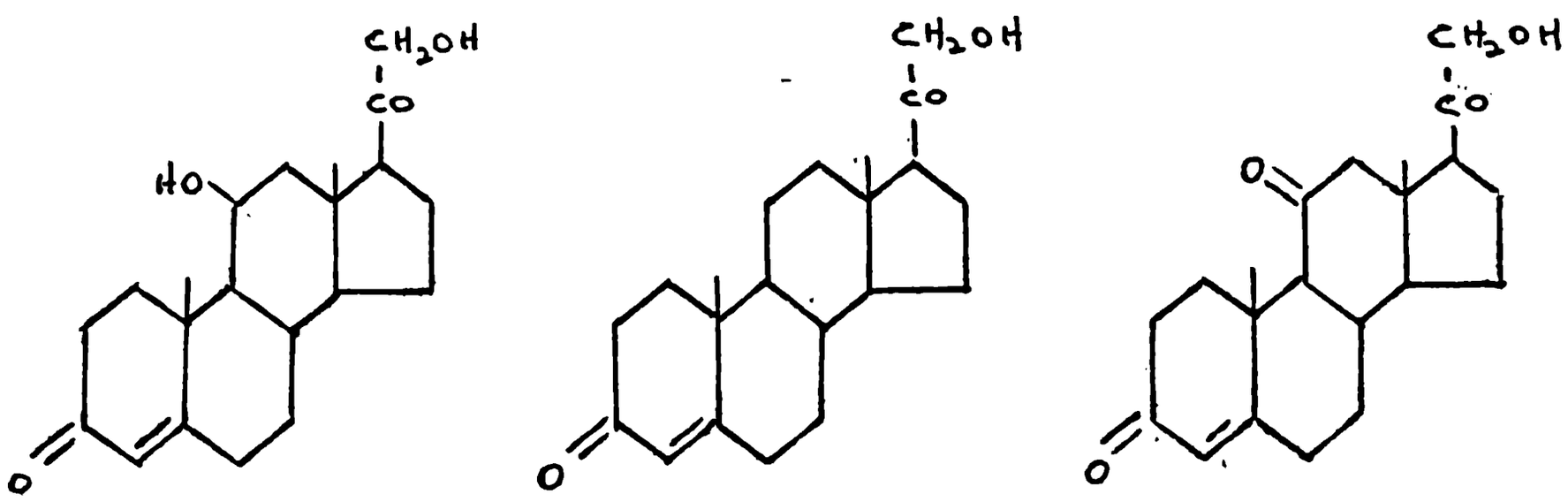


Los compuestos de gran actividad cortical requieren la presencia en su estructura de este grupo α cetol. Y solamente la existencia de este función no es necesaria en el test de mantenimiento de la vida, de los animales adrenalectomizados. Esta estructura química es similar a la encontrada en la fructosa y po

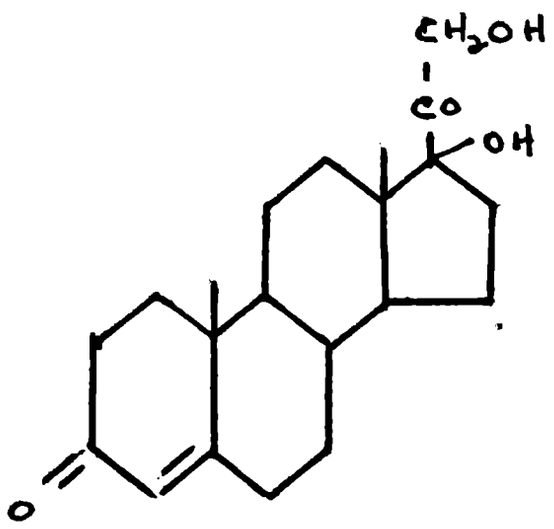
sec fuertes apropiedades reductoras. Es capaz de reducir la plata-diamina, el ión cúprico en solución alcalina y el ácido fosfomolíbdico. Estas reacciones han sido aplicadas a la determinación cuantitativa de los esteroides reductores de este tipo. Así el método de Talbot, que determina substancias neutro-lípido solubles de carácter reductor, es una determinación colorimétrica aplicada a este tipo de esteroides y que se basa en la reducción del ión cúprico, debida a la presencia del grupo α-cetol.

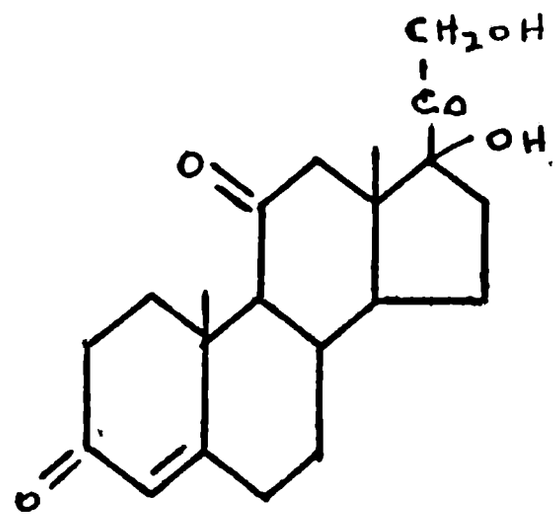
El método de Heard y Sobel (1948) es una determinación colorimétrica basada en la reducción del ácido fosfomolíbdico y debida a la presencia del grupo α-cetol y de la 3-cetona, α-β no saturada.

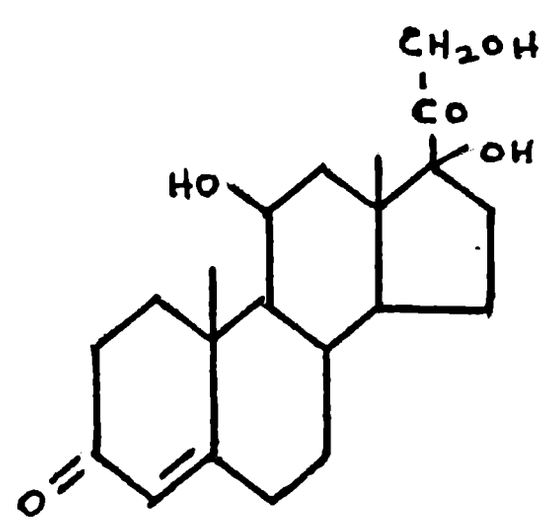
Los 6 esteroides que hasta hace poco tiempo y según Bishop (1954) se consideraban fisiológicamente activos son los siguientes:



Cortiscosterona | 11-Desoxicorticosterona | 11- Dehidrocorticosterona (Compuesto A) Kendall







17-Hidroxi-11-desoxi-corticosterona (Compuesto S) Reichstein	17-Hidroxi-11-dehidro corticosterona (Compuesto E) "Cortisona"	17-Hidroxi-corti-costerona (Compuesto F) Kendall "Hidrocortisona"

Corticosterona: Fué el primer compuesto de este grupo, identificado como un esteroide fisiológicamente activo.

Su nombre sistemático es Δ^4-pregneno-11, 21-diol, 3-20 diona. Fué bautizado con el nombre empírico de Corticosterona y según Howell y Fulton (1951), el nombre y estructura de los esteroides corticales, tiene como punto de referencia a este compuesto.

Bishop (1954), dice que se trata de una substancia poco importante, interesante solamente por haber sido la primera de este grupo, estructuralmente caracterizada.

11-Dessal Corticosterona: Es un compuesto de gran importancia.

Steiger y Reichstein (1937-1938), publicaron importantes trabajos sobre la síntesis y estructura química de esta - - substancia.

la ausencia de hidroxilo o carbonilo (desoxi) en el C-11, la hace relativamente fácil de sintetizar.

Es un compuesto cuantoso activo en el mantenimiento de la vida de los ratas adrenalectomizadas.

Su acción fundamental no lleva a cabo en el metabolismo hídrico y salino.

En terapéutica se emplea mucho su acetato, conocido como Doca (acetato de desoxicorticosterona).

11-Hidroxicorticosterona: También llamada "Compuesto A".

Su principal interés residió en que el laboratorio de Kendall, donde se la produce en gran escala, Sarett (1948), vislumbró la posibilidad, de introducirle un hidroxilo en el C-17, lo que permitió la obtención de cortisona en cantidades razonables.

17-Hidroxi-11 Desoxicorticosterona: Carece de importancia desde el punto de vista fisiológico.

17-Hidroxi-11 Dehidrocorticosterona: Se trata del famoso "Compuesto E" de Kendall, también llamado "Cortisona". Posee interesantes acciones fisiológicas y efectos terapéuticos.

Algunas de sus propiedades son debidas a:

1º) La presencia en el C-3 de una función cetona α , β no saturada.

2º) El grupo α-cetol de la cadena lateral.

3º) Al hecho de que es posible un substituyente en el C-11, lo que también se encuentra en la corticosterona, compuesto A y compuesto F. Esta característica permite clasificar a estos compuestos con el nombre de "11-oxicorticosteroides".

4º) Hay un tercer oxígeno (como hidroxilo) en el C-17, que hace más marcada la disminución de la potencia de este compuesto en el "test" de mantenimiento de la vida y en el "test" de roten-

ción de sodio, cloruros y agua (Test de Everse de Fremory, 1932), pero que aumenta la gluconeo-génesis.

La Corticona muestra estas características estructurales conjuntamente con la:

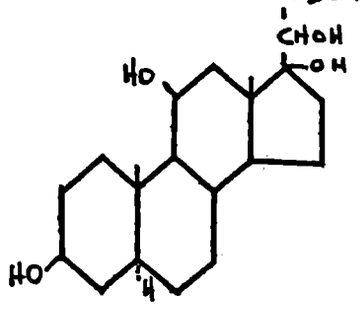
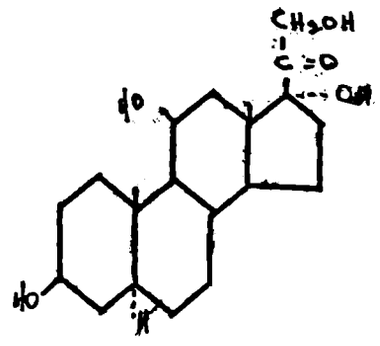
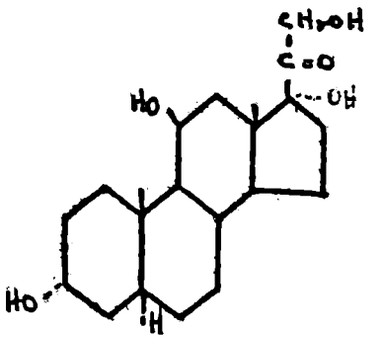
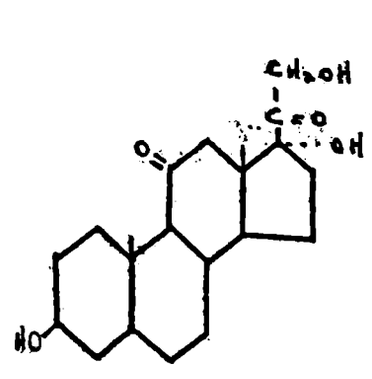
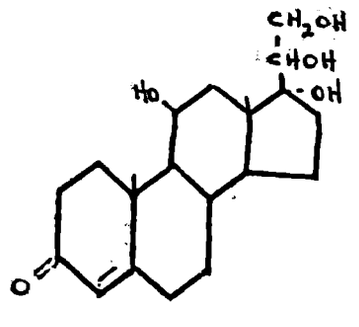
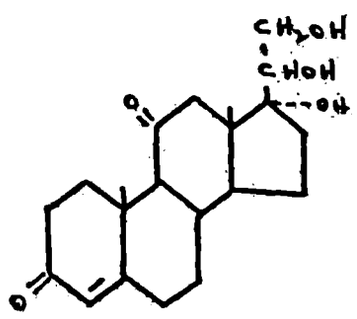
17- Hidrocortisosterona o "Compuesto F" de Kendall, también llamada "Hidrocortisona" o "Cortisol".

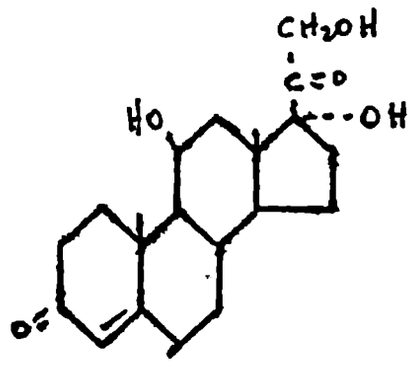
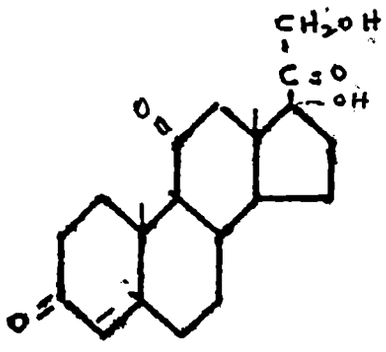
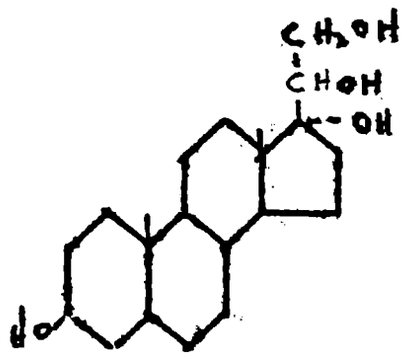
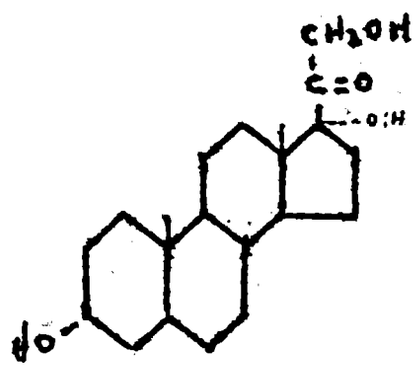
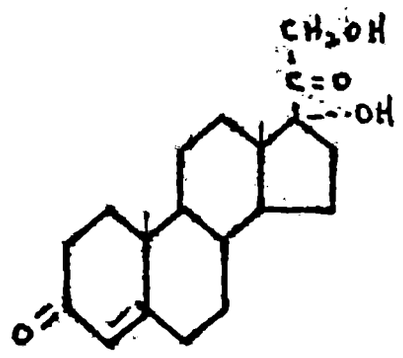
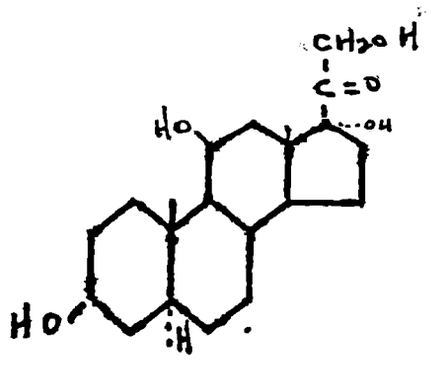
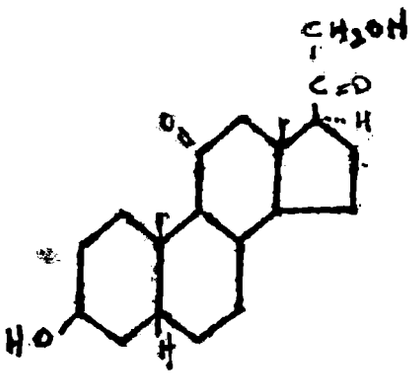
Esta substancia posee las mismas propiedades fisiológicas de la cortisona, pero sin sus efectos desfavorables. Se la considera como la hormona cortico adrenal, a partir de la cual se originarían todos los demás esteroides secretados por la corteza adrenal. En un reciente trabajo Gonia, Axelrod y Miller (1956), incubando hidrocortisona en tejido renal de bovino, aislaron los siguientes compuestos: Δ^4-pregneno-11β,17α : 20β,21-tetrol-3 ona; Δ^4-pregneno-17α,21 diol 3:11:20-triona; Δ^4-androsteno-11β,ol.3:17 diona y Δ^4-androsteno.3:11:17-triona

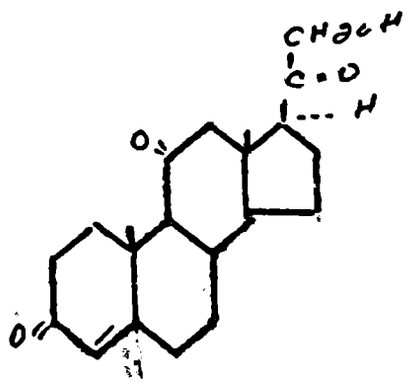
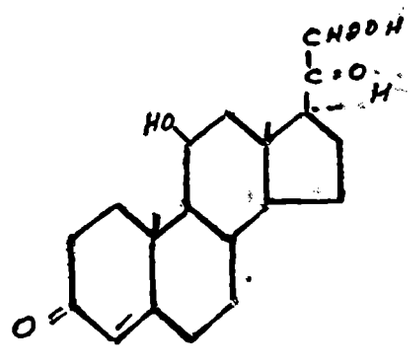
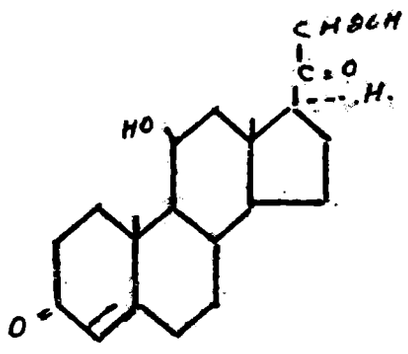
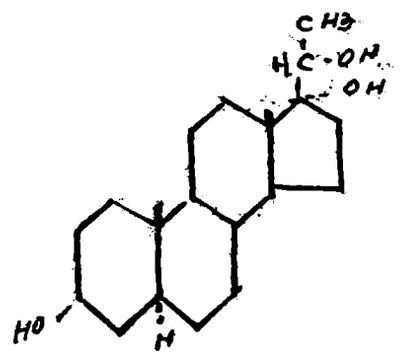
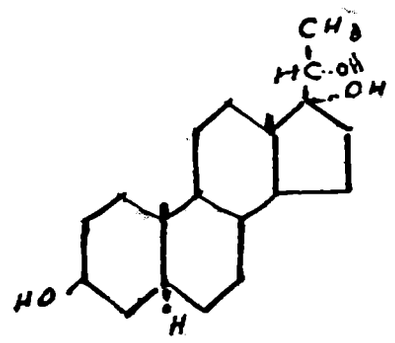
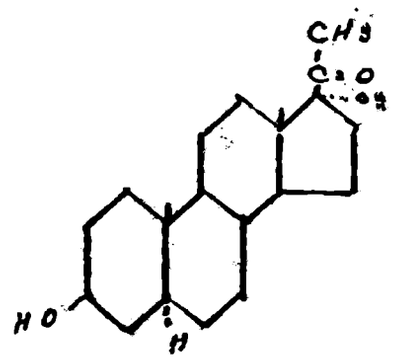
Basándonos en la Tabla publicada por Reichstein y Shoppee (1943), los trabajos de Klyne (1953) y Calladel (1953), hemos confeccionado la siguiente Tabla III de Esteroides Aislados de la Corteza Adrenal.

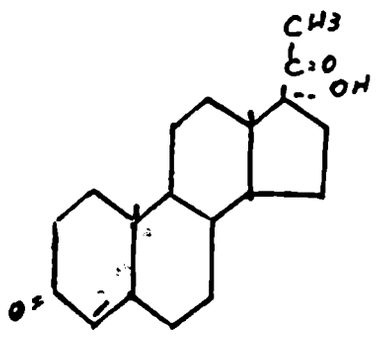
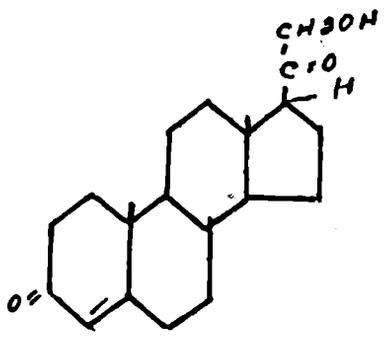
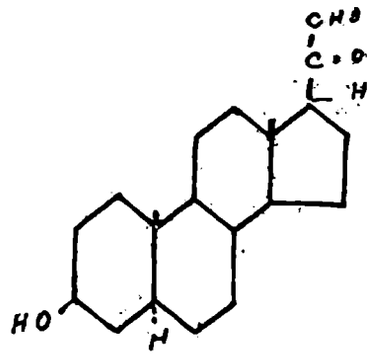
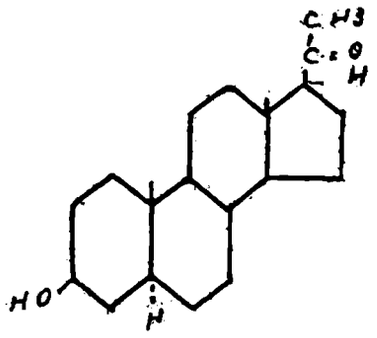
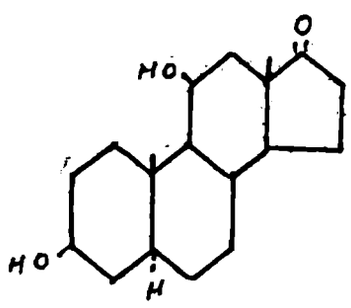
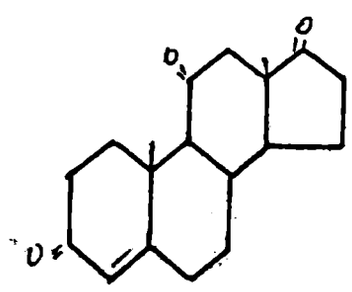
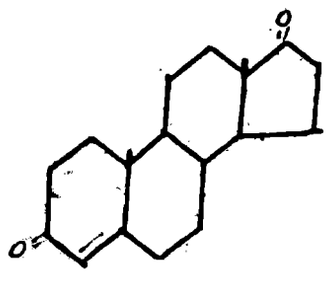
TABLA XII

ESTEROIDES AISLADOS DE LA GLANDULA ADRENAL

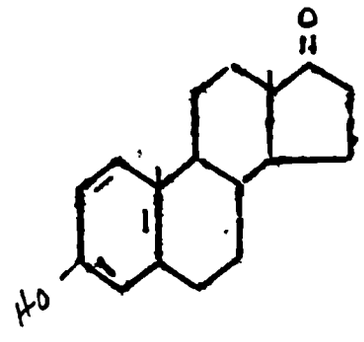
Nº	FORMULA EMPIRICA	FORMULA ESTRUCTURAL	NOMENCLATURA ESTRUCTURAL	NOMENCLATURA CIENTIFICA	DESIGNACION ANALITICA Fichs Kon-Steinberg Zein Dall Zeiner	ACTIVIDAD BIOLOGICA
	SERIE $C_{21}O_5$					
1	$C_{21}H_{36}O_5$		Allo-pregnano 3(β), 11(β), 17(α), 20(β), 21 pentol.		A B A	Dudosa
2	$C_{21}H_{34}O_5$		Allo-pregnano 3(β), 11(β), 17(α), 21 tetrol-20 ona		V - -	Dudosa
3	$C_{21}H_{34}O_5$		Allo-pregnano 3(α), 11(β), 17(α), 21 tetrol-20 ona		C C D	De 3 a 4 unidades rápidas x mg.(Kniseons y Cartland).No demuestra actividad por los métodos del perro o de Everse de Promery.
4	$C_{21}H_{32}O_5$		Allo-pregnano 3(β), 17(α), 21 triol-11:20 diona		B C B?	Dudosa
5	$C_{21}H_{32}O_5$		Δ^4-pregneno 11(β), 17(α), 20(β), 21 tetrol-3 ona		E - -	Dudosa
6	$C_{21}H_{30}O_5$		Δ^4-pregneno-17 (α), 20(β), 21 triol-3,11 diona		U - -	Dudosa

7	$C_{21}H_{30}O_5$		Δ^4-pregneno,11 (β) 17(α), 21 triol-3,20 diona	17-Hidroxi-cortiesterona	H	F	-	Dos unidades ratas x mg.(Kuizenga y Cartland).En la prueba de Everse de Fremery 1,5-2 mg x día equivale a una unidad.Aumenta la excreción de sodio. Glucocorticoide.
8	$C_{21}H_{28}O_5$		Δ^4-pregneno, 17 (α),21 diol-3, 11,20 triona.	17-hidroxi-11-dehidro-corticosterona;Cortisona.	Fa	E	F	Una unidad rata equivale a un mg.Intensa acción neoglucogenética,a dosis elevada provoca glucosuria. Aumenta eliminación urinaria de sodio y cloruros.Glucocorticoide.
	SERIE $C_{21}O_4$							
9	$C_{21}H_{36}O_4$		Allo-pregnano, 3(β),17(α),20 (β),21-tetrol.		K	-	-	Indosa
10	$C_{21}H_{34}O_4$		Allo-pregnano, 3(β),17(α),21 triol-20 ona		P	-	-	Indosa
11	$C_{21}H_{30}O_4$		Δ^4-pregneno,17 (α),21 diol-3, 20 diona		S	-	-	En la prueba de Everse de Fremery, 1 mg. corresponde a una unidad Mineralocorticoide.
12	$C_{21}H_{34}O_4$		Allo-pregneno, 3(β),11(β), 21 triol-20 ona.		R	-	-	Indosa
13	$C_{21}H_{32}O_4$		Allo-pregneno,3 (β) 21 diol-11,20 diona		N	N.	-	Indosa

14	$C_{21}H_{30}O_4$		Δ^4-pregneno,20 (β), 21 diol-3, 11 diona		T	-	-	Dudosa
15	$C_{21}H_{30}O_4$		Δ^4-pregneno,11 (β), 21 diol-3, 20 diona	Corticog tirona	H	B	-	En la prueba de Evrard de Fremery 0.5 a 1 mg equivale a 1 unidad. Aumenta la neoglucemia y la cantidad de grasa almacenada en el tejido subcutáneo. Glucocorticoide. Mineralocorticoide.
16	$C_{21}H_{28}O_4$		Δ^4-pregneno,21 ol-3,11,20 triona	11-Dehidro Corticos terona	-	A	-	Acción similar a la corticosterona pero menor potencia. Glucocorticoide. Mineralocorticoide.
17	$C_{21}H_{28-30}O_4$		Compuesto esteroídico no natural de, de constitución desconocida.		-	-	-	Dudosa
	SERIE $C_{21}O_3$							
18	$C_{21}H_{36}O_3$		Allo-pregnano, 3 (β), 17(α), 20(β) triol		J	-	-	Dudosa
19	$C_{21}H_{36}O_3$		Allo-pregnano, 3 (β), 17(α), 20(α) triol		O	-	-	Dudosa
20	$C_{21}H_{34}O_3$		Allo-pregnano, 3(β), 17(α) diol, 20 ona		L	-	G	Dudosa

21	$C_{21}H_{30}O_3$		Δ^4-pregneno,17 (α) ol-3,20 diona	17α-hidroxi progesterona	-	-	-	Actividad androgénica demostrada en animal castrado. Estimula crecimiento cresta de capones. Testoide (andrógeno).
22	$C_{21}H_{30}O_3$		Δ^4-pregneno,21 ol-3,20 diona	11-desoxicorticosterona; Doc. Acetato comercial y como	-	-	-	Asegura vida de animales adrenalectomizados; causa retención de sodio y cloruros; favorece eliminación de potasio. Aumenta Hidremia. Puede ser hipertensor. Mineralo corticoide.
	ERIE $C_{21}O_2$							
23	$C_{21}H_{34}O_2$		llo-pregnano, (3)ol-20 ona		-	-	-	
24	$C_{21}H_{30}O_2$		Δ^4-pregneno,3, ol-20 ona	rogesterona	-	-	-	Esteroide (Progestágeno)
	ERIE C_{19}							
25	$C_{19}H_{30}O_3$		Androstano 3(β), 11(β) diol-17 ona	11-Hidroxi-androsterona	-	-	-	Ligera actividad androgénica. Testoide.
26	$C_{19}H_{24}O_3$		Δ^4-androsteno 3, 11, 17 triona	Adrenosterona	-	-	-	Ligera actividad androgénica. Testoide.
27	$C_{19}H_{25}O_2$		Δ^4-androsteno-3,17 dions		-	-	-	Ligera actividad androgénica. Testoide.

SERIE C_{18}-

28	$C_{18}H_{24}O_2$		Δ 1,3,5:10- estratrieno, 3(β) ol- 17 ona	Estrona	-	-	-	Marcada actividad estrogénica Foliculoide

Ayaire (1954), dice que con el aislamiento e identificación química de una nueva hormona mineralo corticoide, la - Aldosterona o Electrocortina, se ha franqueado una nueva etapa en el estudio de la Endocrinología Cortico Adrenal.

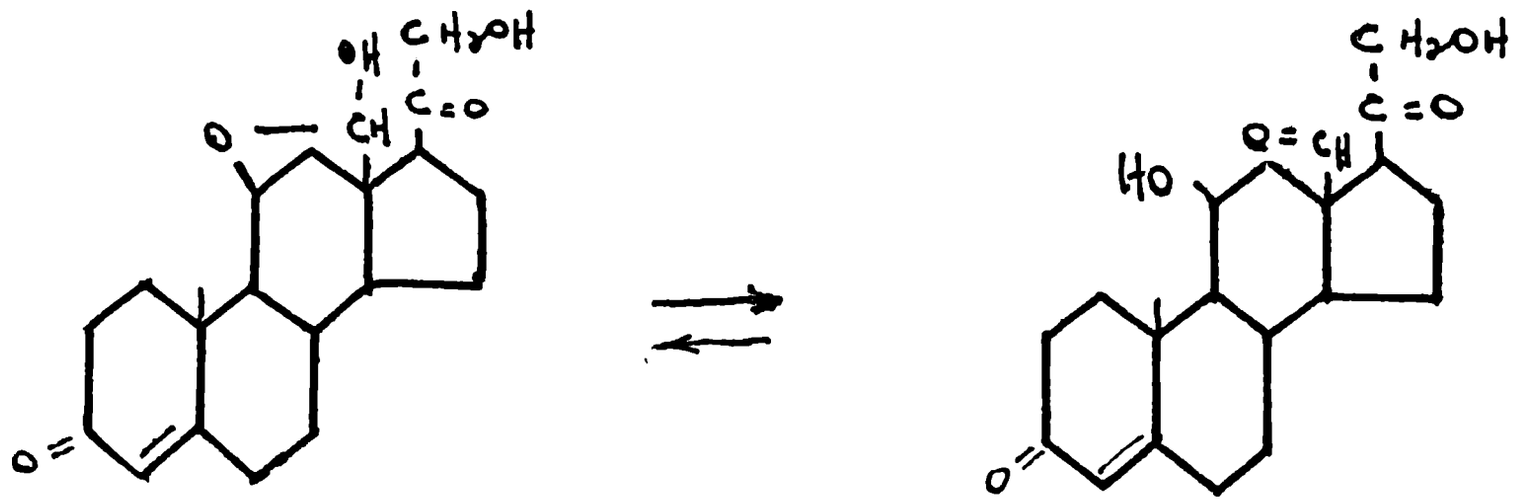
Ya Simpson, Tait y Fush (1952), estudiando mediante cromatografía en papel, extractos diversos de glándulas adrenales y de sangre venosa adrenal, encontraron que la substancia que ellos llamaron E.S. corticona, ejercía una actividad sobre la retención de sodio mucho más intensa que este glucocorticoide. Esta hormona fué denominada provisionalmente "Electrocortina".

Mas tarde Reichstein y Von Euw y Sttatoin y Kohhor, lograron en Suiza, aislar esta substancia en forma cristalina, de las adrenales al igual que Simpson y col.

Tiene los siguientes caracteres químicos: incolora, fuertemente hidrosoluble muy sensible a los agentes físicos y químicos, inactivada por los álcalis y ácidos, con fórmula bruta $C_{21}H_{28}O_5$.

Su estructura se acerca más al grupo de los 11-oxiesteroides, activos sobre el metabolismo de los glucidos, que a la Dca (Prezdcal, 1955).

Posee una función aldehídica unida al C-18 y por eso Simpson propone el nombre de Aldosterona, en substitución del provisional de Electrocortina dado en un principio y que proyecta luz algo en su acción.



HEMIACETAL ALDEHIDO

La forma aldehído de la derecha difiere de la cortisosterona, solo por el grupo aldehído de la posición 18.

La estructura aldehído está en equilibrio dinámico con la estructura hemiacetal de la izquierda.

La aldosterona es una hormona potente en su actividad mineralocorticoide, Tarter (1955) y Kelley (1956).

La dosis diaria mínima requerida para mantener al perro adrenalectomizado oscila entre 6 y 12 microgramos por día, - mientras que son necesarios 5.000 microgramos por día de hidrocortisona o cortisona, con el mismo objeto. El porcentaje de potencia mineralocorticoide de la aldosterona es de 20, si se compara con la desoxicorticosterona, mientras que la hidrocortisona y la cortisona solo tienen un porcentaje de 0.025 a 0.05. De manera que la aldosterona tiene una eficacia mineralocorticoide 20 veces superior a la desoxicorticosterona y aproximadamente 400 veces superior a la hidrocortisona o la cortisona.

La importancia de este nuevo esteroide descubierto, ha hecho exclamar a Reichstein que la corteza adrenal elaboraría tres hormonas esenciales: la hidrocortina, la aldosterona y l

nexicortiscortisona.

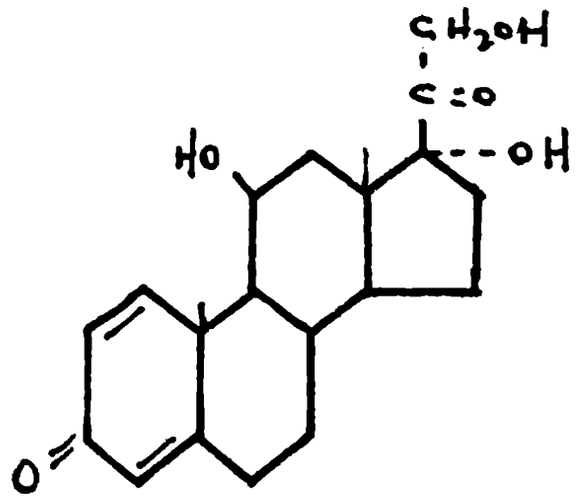
Si la síntesis de la Hidrocortisona pareció en un momento representar el punto final de las investigaciones concernientes a la química de las hormonas glucocorticoides de la corteza adrenal, el descubrimiento de un nuevo grupo de hormonas de actividad notablemente superior, indica claramente que los progresos son siempre posibles en el dominio indefinido de la química de los Esteroides (De Gennes E. y Kathiu de Fossey B., 1955).

Estos dos nuevos esteroides fueron el Metacortandrolona y el Metacortandracina y las primeras experiencias fueron realizadas en el Instituto Nacional de Artritis y Enfermedades Metabólicas de Bethesda, Maryland U.S.A. Este trabajo fué publicado en el J.A.M.A. del 22 de Enero de 1955.

Ambos esteroides fueron conseguidos por vía sintética y poseen acción cortisónica (Ruiz Moreno, 1955).

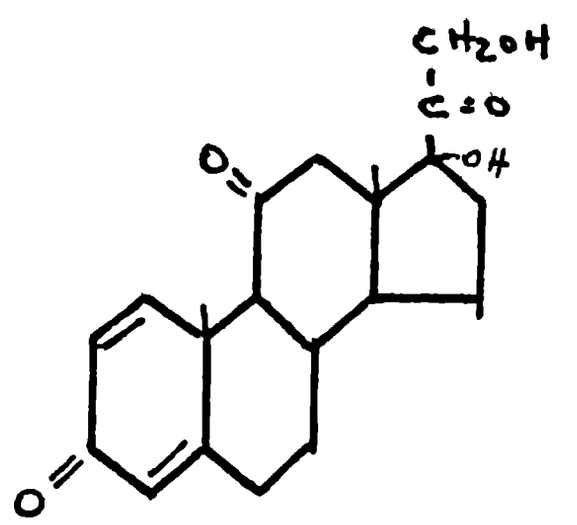
Poco después de los primeros ensayos el Council on Pharmacy and Chemistry de la American Medical Association, cambió el nombre de Metacortandracina por el de Prednisona y el de Metacortandralona por el de Prednisolona.

El solo agregado de una doble ligadura entre el C-1 y 2 del primer núcleo bencénico del esqueleto esteroídico diferencia la Metacortandracina o Prednisona de la Cortisona y la Metacortandrolona o Prednisolona de la Hidrocortisona. De los llama - Estoroides Δ-1:



Prednisolona

(Δ^{1-4}-pregnanedieno-11(β),17(α),21 triol-3-20 diona) o Delta hidrocortisona



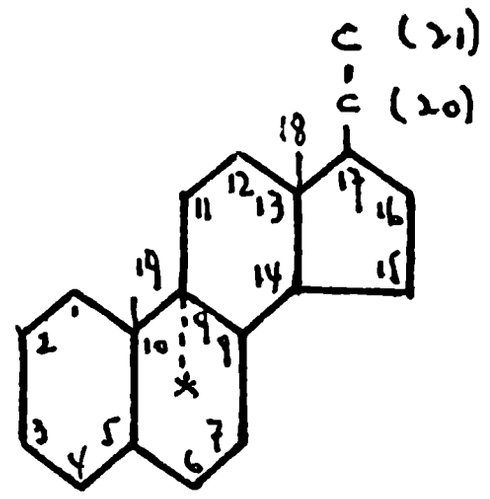
Prednisona

(Δ^{1-4}-pregnanedieno-17(α),21 diol-3,11, 20-triona) o Delta-cortis na

Los Δ-1 análogos de la cortisona y de la hidrocortisona: prednisona y prednisolona, serían dos nuevos corticosteroides con una actividad tres a cinco veces superior a la de la hidrocortisona y cortisona (Zelcer, 1956).

Las adquisiciones más recientes en la bioquímica de los Esteroides ha sido la incorporación a la terapéutica moderna de los derivados halogenados de la Hidrocortisona. Uno de ellos es la Fluorhidrocortisona de gran potencia biológica (Nusimovich y Caffer, 1956).

Se observó que la substitución de la posición 9-α en el compuesto F o en el compuesto E, producía cambios notables en la actividad de estos compuestos, tanto con respecto a sus efectos glucocorticoides como en lo referente a los mineralocorticoides.



La figura muestra la estructura fundamental de los Esteroides 9-α-halogenados. La x en la posición 9-α' puede representar cualquiera de los radicales halógenos: fluor, cloro, bromo o yodo. Estos derivados halogenados se sintetizaron para muchas de las hormonas esteroides comunes.

Se han ensayado los derivados del yodo, bromo, cloro, fluor, hidroxi, metoxi y etoxi. Entre estos compuestos se halló que el de mayor potencia glucocorticoide era el 9-α-Fluor-F-acetato. Se demostró también que este compuesto es un poderoso - - inhibidor para la liberación del ACTH hipofisario. Su administración determina descenso marcado en la excreción urinaria de 17-Cetoesteroides y 17-hidroxicorticosteroides, en los pacientes con hiperplasia corticoadrenal congénita. Por otra parte se favorecen - también sus efectos mineralocorticoides, pero en menor grado. Así pues se esperaba que este esteroide demostraría ser una "Supercortisona" y en efecto, en cierto modo lo es.

El conocimiento actual de los esteroides halogenados puede resumirse como sigue: la halogenación en la posición 9-α produce cambios notables en la actividad metabólica de los esteroides adrenales. El grado exacto del cambio depende en particular -

del radical halógeno que se substituye. De los derivados halogenados, la 9-α fluorhidrocortisona es con mucho el más eficaz, respecto a los efectos glucocorticoides y aunque no el menos potente de-- lo mineralcorticoide, su efecto sobre el metabolismo mineral, no es tan grande como el de algunos otros derivados halogenados. Si bien la acción glucocorticoide de este compuesto, supera varias veces la de los esteroides más antiguos, cortisona e hidrocortisona, sus - efectos mineralocorticoides también son superiores. Los efectos secundarios que produce son tan rápidos e intensos que se ha abandonado su empleo, salvo para aplicaciones tópicas (Kelley, 1956) (de la C. y Amira A., 1956).

C 19- ESTEROIDES:

En la serie de los C 19 Esteroides están incluídas las hormonas endrógenicas y sus productos de transformación.

Se da el nombre de andrógeno a toda substancia, que posee actividad masculina (J.A.M.A., 1936).

Los estudios sobre las hormonas androgénicas y sus derivados se han venido realizando con cierto paralelismo con las realizadas sobre los estrógenos.

Murrian (1950), refiriéndose a la historia de las investigaciones realizadas sobre estos compuestos, nos dice que en 1927, un grupo de investigadores entre los que se encontraba L.C. Mc Gee, bajo la dirección de Moore y de F.C. Koch, demostró la presencia de un principio androgénico en los extractos de testículo de buey.

El primer andrógeno puro, cristalino, fué obtenido sin embargo, no de los testículos sino de la orina. En 1928 Loewe y col., informaron sobre la presencia de un principio androgénico

en la orina del hombre y tres años mas tarde Butenandt y Tscherning (1935), tuvieron éxito al aislar de esta fuente, una hidroxicetona saturada /la Androsterona. Según estos autores, esta substancia era responsable del desarrollo de los caracteres sexuales secundarios, crecimiento de la cresta y barba de gallo. En el aislamiento original de la androsterona, solo se obtuvieron 15 mgs. de substancia cristalina a partir de 15 mil litros de orina. Los análisis indicaron la posibilidad de que esta substancia poseyera un esqueleto de carbono tetracíclico y esto sugirió la posibilidad ulterior de que pudiera estar relacionada estructuralmente a los estrógenos. Por consiguiente más tarde en 1932, Butenandt intentó presentar una fórmula estructural para la Androsterona, que era análoga a la estructura probable de la Estrona, lo cual estaba en esa época sin embargo, aún sin demostrar.

La fórmula proyectada por Butenandt pronto demostró ser correcta.

Ruzicka y col. (1935) lograron éxito en la preparación, a partir de cuatro hidrocolesteroles con C-3 y C-5 esteroisómeros, por eliminación oxidativa completa de sus cadenas laterales, obteniendo los cuatro hidroxicetonas saturadas representadas por la fórmula de Butenandt. La obtenida del colestano-3(∝)ol, demostró ser idéntica en todos los aspectos a la Androsterona, evidenciando esta última ser la Etio-allo-colano-3(∝) ol-17 ona.

Butenandt, Hannebaum y col. (1935) aislaron un segundo andrógeno cristalino de la orina humana. Este compuesto no era saturado y demostró estar estrechamente relacionado con la Androsterona. Algo más tarde fué preparado en varios laboratorios diferentes, eliminando por oxidación la cadena lateral del colesterol, resultó ser la Δ^5-androsteno,3(β)-ol,17 ona o Dehidroisoandrosterona.

Callow y Deanesly (1935), demostraron que la Dehidroisoandrosterona era alrededor de tres veces más activa sobre la cresta de gallo que la androsterona y que esta última era la responsable del crecimiento de la vesícula seminal y de la próstata de la rata púber castrada. En este aspecto la dehidroisoandrosterona era poco activa.

El interés en el principio androgénico de los testículos se mantenía mientras tanto, particularmente en Chicago y en el laboratorio Laqueur en Amsterdam. Se habían acumulado sin embargo evidencias biológicas y químicas que indicaban que la hormona testicular, podía no ser igual a cualquiera de los dos andrógenos cristalinos que habían sido aislados en la orina y así fué como en el año 1935, fué descubierto el andrógeno testicular, como una substancia cristalina pura. Este hallazgo se realizó en el laboratorio Laqueur por Dingemanse, Freud, David y Laqueur (1935) y a la substancia se la denominó Testosterona, que poseía una actividad 7 a 10 veces superior, a la androsterona aislada de la orina. Muy poco después, la testosterona fué obtenida de la Dehidroisoandrosterona en los Laboratorios de Butenandt y Ruzicka, demostrándose que químicamente era la Δ^4-androsteno-3 ona-17(α) ol.

Las investigaciones prosiguieron y Butenandt y Kudegus (1935), describen a la Δ^4-Androstenodiona, como a una hormona masculina de gran actividad, aindicando al colesterol como a la probable substancia madre de la que derivan las hormonas sexuales; según estos autores dicho compuesto poseería un doble grupo en el C-3 y en el C-17 y una doble ligadura en el C-4. Sobre el test de la cresta de capón, mostraba aproximadamente la misma actividad que la Androsterona, pero sobre el test de la vesícula glandular de la rata, la actividad era considerablemente superior a la de la

Androsterona.

Tschopp (1935), confirma lo anterior diciendo que esta dicetona no saturada, posee la acción peculiar de los extractos testiculares y Koronchevsky y Dennison (1935), la ensayaron en 74 ratas machos, observando una relación entre las dosis administradas y los caracteres sexuales secundarios. Simultáneamente Butenandt y Hanisch (1935), publican, que la Testosterona posee la mayor actividad de todas las hormonas masculinas sobre el Test de la cresta de gallo y las vesículas seminales. Sobre el test de la vesícula, esta hormona es cinco veces mas activa que la Androstenodiona y 10 veces más activa que la Androsterona.

Ruzicka y Kagi (1937), llevaron a cabo importantes estudios sobre la esteroisomería y la actividad de las hormonas masculinas.

Las investigaciones sobre los andrógenos urinarios y los 17-Cetoesteroides neutros con ellos relacionados, fueron favorecidas en años posteriores por la aparición de un método colorimétrico que permitió su investigación cuantitativa, la reacción de Zimmerman (1933-36). Esta reacción fué luego desarrollada por Yu y Chou (1937) y perfeccionada más aún por los trabajos de Callow y col. en el año siguiente, a los que nos referiremos más adelante.

Estructura química:

Los andrógenos y sus productos de transformación, son substancias derivadas del Etiocolano y del Etiocolocolano o Androstano. Ver Tabla nº IV.

Se considera a la Testosterona como a la hormona androgénica producida por los testículos, su nombre sistemático es Δ^4-Androstano-17(α) ol-3 ona.

En el C-3 existe una función cetónica y entre los

TABLA IV

ESTEROIDES DE CARACTER FENOLICO

FORMULA EMPIRICA	NOMBRE SISTEMATICO	NOMBRE TRIVIAL	ORIGEN
	CON FUNCION CETONAS		
$C_{19}H_{26}O_2$	Δ^1-Androsteno-3,17-diona	Δ^1-Androsteno-diona	
$C_{19}H_{26}O_2$	Δ^4-Androsteno-3,17-diona	Δ^4-Androstendiona	
$C_{19}H_{26}O_2$	Δ^5-Androsteno-3,17-diona	Δ^5-Androstendiona	
$C_{19}H_{28}O_2$	Androstano-3,17-diona	Androstandiona	Orina de hombre y mujeres con carcinoma adrenal
	$\Delta^{??}$ Androstano-17-ona	$\Delta^{??}$ Androstanona	Orina de hombre; orina de hombre con cáncer de testículo.
	$\Delta^{3,5}$ Androstadieno-17-ona		
	CON FUNCIONES ALCOHOL-CETONAS		
$C_{19}H_{28}O_2$	Δ^5-Androsteno-3(β)-ol-17-ona	Dehidroisoandrosterona o dehidroisoandrosterona	Orina de hombres y mujeres normales. Orina de mujeres con tumor adrenal. Orina de buey. Orina de vaca preñada.
$C_{19}H_{28}O_2$	Δ^5-Androsteno-3(α)-ol-17-ona	Epidehidroandrosterona	
$C_{19}H_{28}O_2$	Δ^4-Androstano-3-ona-17(α)-ol	Testosterona	
$C_{19}H_{28}O_2$	Δ^4-Androsteno-3-ona 17(β)-ol	cis-Testosterona	
$C_{19}H_{30}O_2$	Androstano-3-ona-17(β)-ol	Dihidrotestosterona	
$C_{19}H_{30}O_2$	Androstano-3(α)-ol-17-ona	Androsterona o cis-androsterona	Orina de hombres y mujeres normales; orina de mujeres con tumor adrenal; orina de buey; orina de mujer embarazada y de yegua preñada.
$C_{19}H_{30}O_2$	Androstano-3(β)-ol-17-ona	Iso-androsterona o trans-androsterona	Orina de hombres; orina de mujeres con hiperplasia adrenal.
	Androstano-3(α)-11(β)-diol-17-ona	11-hidroxiandrosterona	Orina de hombres con carcinoma adrenal.
	Δ^{11}-Androsteno-3(α)-ol-17-ona		Orina de hombre con tumor adrenal.
$C_{19}H_{28}O_3$	Δ^4-Androsteno-17-ol-3,6-diona	6-Dehidrotestosterona	
	CON FUNCIONES ALCOHOLICAS		
$C_{19}H_{30}O_2$	Δ^4-Androsteno-3(β),17(α)-diol	Δ^4-Androstenodiol	
$C_{19}H_{30}O_2$	Δ^5-Androsteno-3(β),17(α)-diol	Δ^5-Androstenodiol	
$C_{20}H_{32}O_2$	Δ^5-Androsteno-3(β),17(β)-diol	Cis-Δ^5-Androstenodiol	

$C_{19}H_{32}O_2$	Androstano-3(α), 17(α)-diol	Androstano diol	
$C_{20}H_{32}O_2$	Androstano-3(β), 17(β)-diol	Cis-Androstanodiol	
$C_{19}H_{32}O_2$	Androstano-3(β), 17(α)-diol	Isoandrostanodiol	
	Δ^5-Androsteno-3(β), 16(β), 17 (β)-triol		Orina de hombre con carcinoma adrenal.

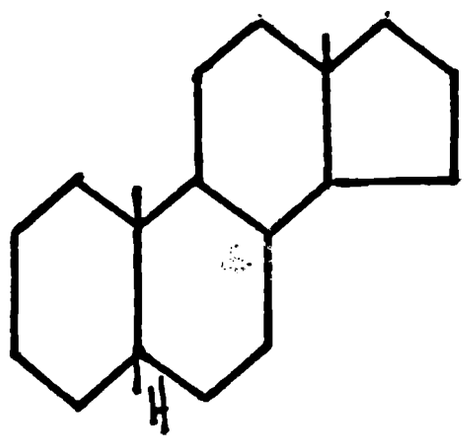
CON FUNCIONES METILO

$C_{20}H_{30}O_2$	17-Metil-Δ^4-Androsteno-3-ona-17(α)-ol	Metil-testosterona	
$C_{19}H_{32}O_2$	17-Metil-Δ^5-Androsteno-3-ona-17(α)-ol	Metil-dihidrotestosterona	
$C_{20}H_{34}O_2$	17-Metil-Androstano-3 (α), 17(α)-diol	17-Metilandrostanodiol	
$C_{24}H_{34}O_2$	17-Metil-Androstano-3 (β), 17(α)-diol.	17-Metilisoandrostanodiol	

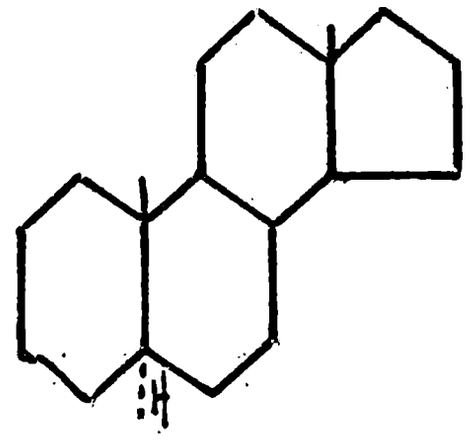
C - 4 y 5, una doble ligadura. Esta agrupación es característica de todas las hormonas esteroides de gran actividad, exceptuando los estrógenos. Cualquier cambio en ese grupo, reduce o elimina la especificidad de la hormona.

Fraser (1941) dice que la testosterona es parcialmente excretada como 17-cetoesteroide en la orina.

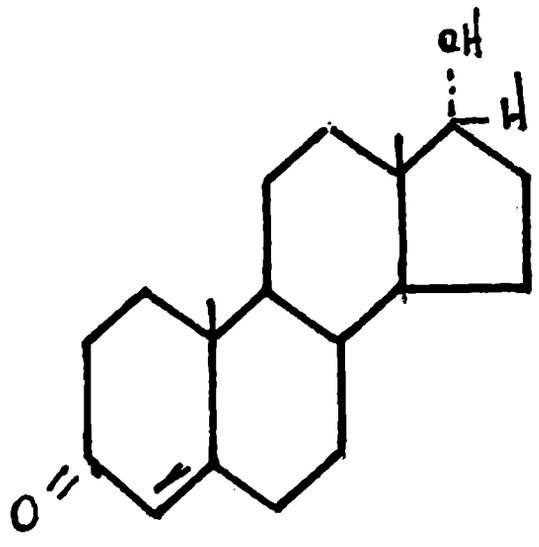
Se conoce un isómero de la testosterona que tiene el hidroxilo del C-17 en la posición . Se llama Cistestosterona, debido a que el hidroxilo en tal posición, tiene la relación "Cis" con respecto al metilo en el C-13. Su nombre sistemático es: Δ^4-Androsteno, 17(β) ol- 3 ona.



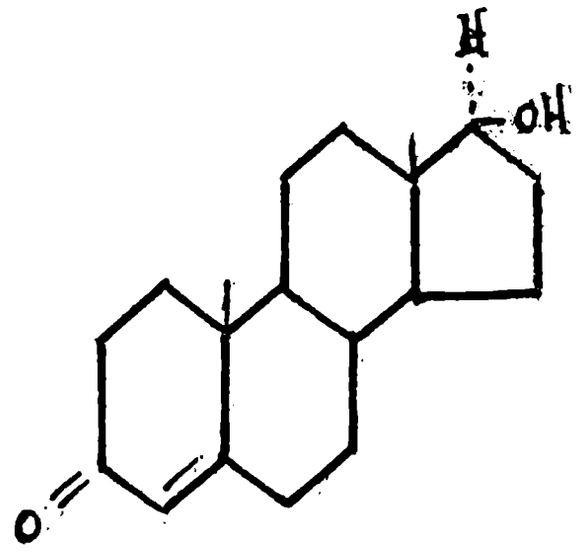
Etiocolano



Etioallocolano o Androstano



Testosterona



Cis-Testosterona.

Otros andrógenos han sido aislados de los extractos suprarenales. Los metabolitos conocidos de la testosterona están incluídos en el grupo de los compuestos conocidos como: 17-Cetoesteroides neutros.

"Neutros" para distinguirlos de algunos 17-cetoesteroides como la Estrona, que son ácidos y de carácter estrogénico.

Este grupo de esteroides, que es el que más particularmente nos interesa en el presente trabajo, los 17-cetoesteroides, tienen todos en común la presencia de una función cetona en el C-17.

Los 17-cetoesteroides neutros pueden dividirse para su mejor estudio en dos grandes grupos: A y B.

Grupo A { Con Función Alcohólica

Grupo B { Sin Función Alcohólica

A su vez los 17-cetoesteroides del grupo A, es decir los estudios de función alcohólica, según sean o no, precipitables con Digitonina, se pueden dividir en: Precipitables por la Digitonina y en: No precipitables por la Digitonina. Este comportamiento está en relación con una disposición espacial de los átomos dentro de la molécula (Estereoisomería), cuando las funciones alcohólicas, están en el mismo plano que los metilos se habla de"posición Cis", que se puede indicar también con la letra (β). Cuando están en plano opuesto, se habla de"posición trans", que se indica con la letra (α).

- 17-Cetoesteroides Neutros
  - Grupo A con Función alcoholica
    - 1º) Precipitables por Digitonina → Derivados (β)
    - 2º) No precipitables por Digitonina → Derivados (α)
  - Grupo B sin Función alcohólica

A continuación en las Tablas V correspondientes hacemos una descripción somera, de los 22 compuestos incluídos en estos dos grupos.

Desde un punto de vista cuantitativo Dorfman y Shipley (1951), dicen que la Androsterona y la Etiocolanol-3(α)-17 ona, integran la mayor parte de los 17-Cetoesteroides urinarios.

Solomon y Lobriner (1953), se refieren a un potente andrógeno adrenal aislado de la orina de una paciente tratada con ACTH durante largos períodos, este compuesto es el: Δ^4-Androsteno, 11(β) hidroxi 3,17 diona.

Kemp y col. (1954), presentan un trabajo donde se trata la identificación y caracterización de dos nuevos 17-Cetoesteroides: el $\Delta^{9:11}$ Androsteno, 3(β) ol- 17 ona y el Androstano,3(β), 11(β) diol-17 ona.

Liberman y Lobriner (1948) dicen que la Androsterona y su isómero inactivo el Etiocolano 3(α) ol- 17 ona suman el 70% de los esteroides eliminados por la orina en personas normales.

Los autores antes mencionados, aplicaron en es-

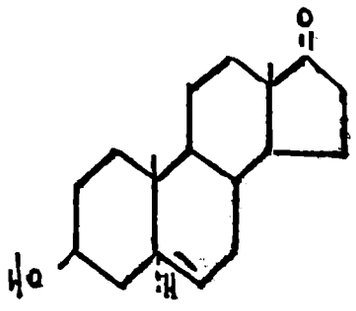
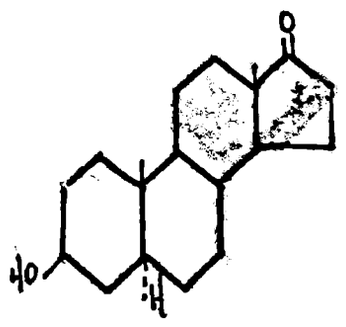
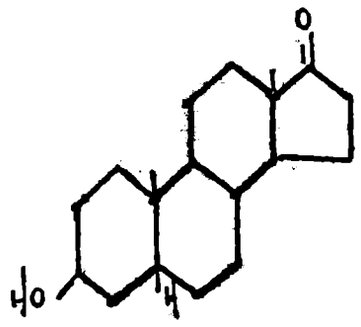
TABLA V

17 - CETOESTEROIDES NEUTROS

GRUPO A 1°)

FRACCION ALCOHÓLICA PRECIPITABLE POR DIGITONINA

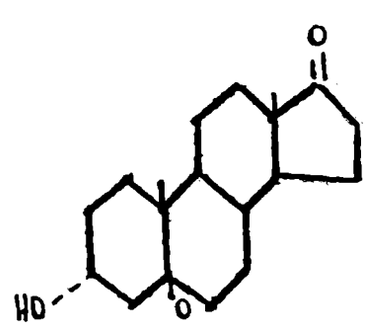
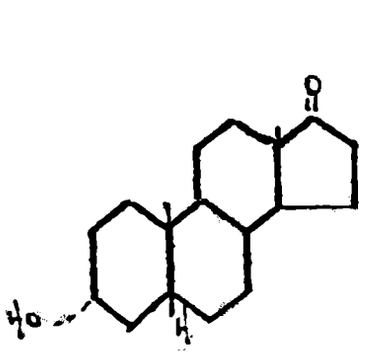
- DERIVADOS (β) -

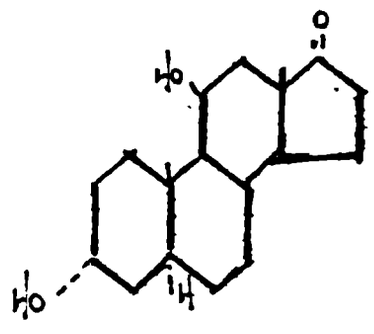
Nº	FORMULA EMPIRICA	FORMULA ESTRUCTURAL	NOMBRE SISTEMATICO	NOMBRE EMPIRICO	ORIGEN Y ACTIVIDAD
1	$C_{19}H_{28}O_2$		Δ^5-Androstemo,3(β) ol- 17 ona	Dehidroisoandrosterona	Deriva de la corteza adrenal. No se sabe si hay precursor. No deriva de la Testosterona. Posee 1/3 de la actividad fisiológica de la Androsterona.
2	$C_{19}H_{30}O_2$		Androstano,3(β) ol- 17 ona	Isoandrosterona o Epiandrosterona	Aisla de la orina de hombres y mujeres. Puede derivar de la androsterona. Actividad biológica débil.
3	$C_{19}H_{30}O_2$		Etiocolano,3(β) ol- 17 ona.		

GRUPO A 2°)

FRACCION ALCOHOLICA NO PRECIPITABLE POR DIGITONINA

EPIMEROS (α)

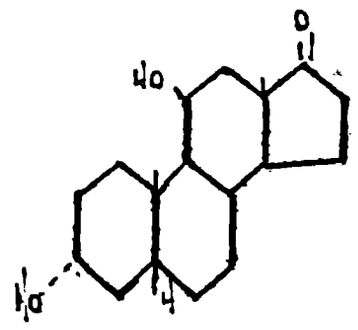
4	$C_{19}H_{30}O_2$		Androstano,3(α) ol- 17 ona o Etio-alloco1ano 3( ) ol-17 ona	Androstero@	Metabolito de la Testosterona. Su origen es el testículo y la corteza adrenal. Posee 1/10 de la actividad de la Testosterona.
5	$C_{19}H_{30}O_2$		Alloetiocolanol,3(α) 17- ona	Etiocolanol	Metabolito de la Testosterona y de la dehidroisoandrosterona. Su origen es el testículo y la corteza adrenal Carece de actividad androgénica.

6 $C_{19}H_{30}O_3$ 

Androsteno,3(α)ol-11(β) diol-17 ona

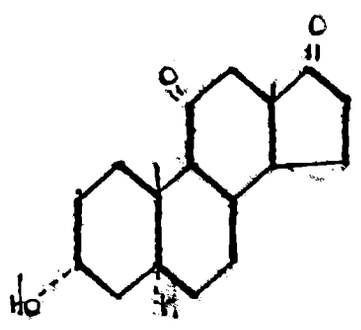
11-Hidroxi-Androsterona

Deriva de la corteza adrenal en el hombre normal o en la mujer con hiperplasia cortical.
Tiene 1/4 de la actividad de la androsterona.

7 $C_{19}H_{30}O_3$ 

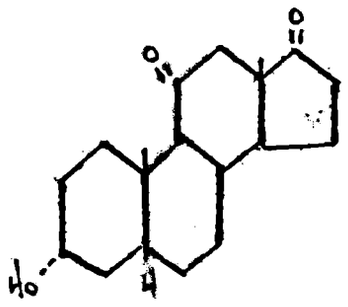
Tiocolano-3(α), 11(β) diol-17 ona

Su origen es la corteza adrenal.
Es precursor del androstano,3(α) ol-17 ona.

8 $C_{19}H_{28}O_3$ 

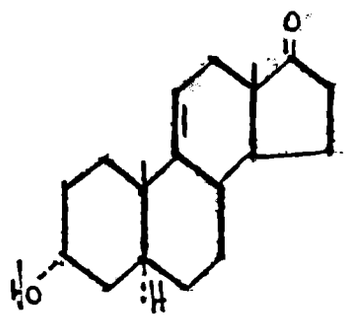
Androstano-3(α) ol- 11,17 diona

Su origen es la corteza adrenal.

9 $C_{19}H_{28}O_3$ 

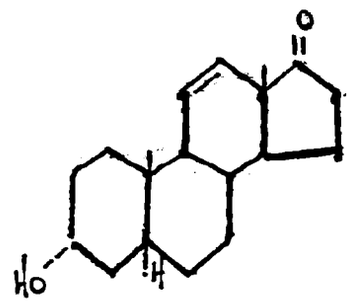
Etiocolano-3(α) ol- 11,17 diona

Producto derivado del metabolismo de varios esteroides.
Aislado en hombres y mujeres.

10 $C_{19}H_{28}O_2$ 

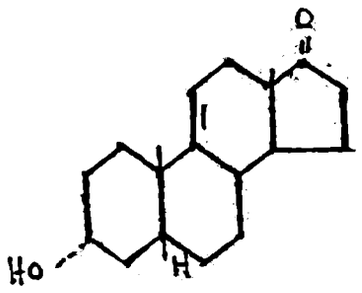
Δ9-11, Androsteno 3(α)ol- 17 ona

Aislado en la orina de hombres y de una niña con virilismo. Algunos autores lo citan como posible artefacto (Serfaas y Shipley 1951).
A partir de la Androsteno 3(α) 11( ) diol-17 ona.

11 $C_{19}H_{28}O_2$ 

Δ11-12, Androsteno 3(α)ol-17 ona

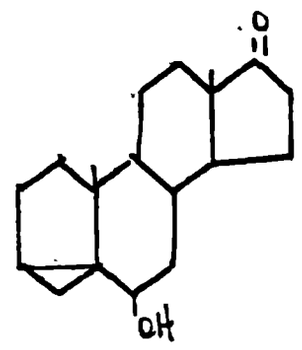
Aislado de la orina de niña con virilismo y tumor cortico adrenal.
Tiene 1/4 de la actividad de la Androsterona.

12 $C_{19}H_{28}O_2$ 

Δ9-11, Etiocolano, 3(α)ol- 17 ona

Deriva del Etiocolano 3(α), 11(β) diol- 17 ona
Se citan como probable artefacto (Serfaas y Shipley 1951).

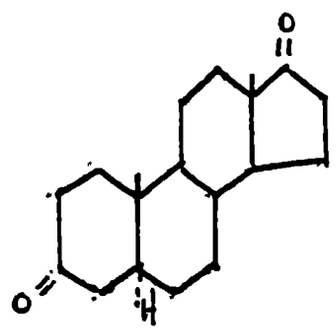
13 $C_{19}H_{28}O_2$



Androstano-
6 ol-17 ona

GRUPO B
FRACCION NO ALCOHOLICA

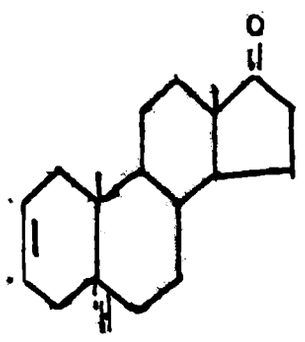
14 $C_{19}H_{28}O_2$



Androstano,3-17
diona

Probable derivado de la Testosterona
y de la Dehidroisoandrosterona

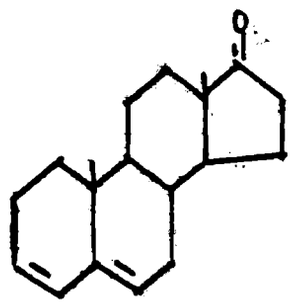
15 $C_{19}H_{26}O_2$



Δ^{2-3}-Androstano,
17-ona

Aislado de hombres y mujeres con
hiperplasia corticosdrenal.
Deriva de la Androsterona.
Venning y col. (1942), consideran que
este compuesto sería un artefacto.

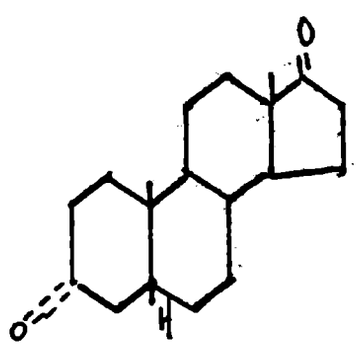
16 $C_{19}H_{26}O$



Δ^{3-5}-Androsten-
dieno-17 ona

Derivado de la testosterona.
Nula actividad androgénica.
Dorfman y Shipley (1951) lo consideran como probable artefacto a partir
de la dehidroisoandrosterona.

17 $C_{19}H_{28}O_2$

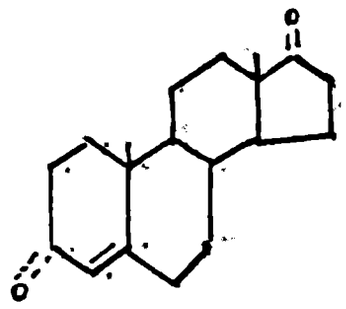


Etiocolano-
3,17 diona

Etiocolano-
diona

Hallado en hombres y mujeres.

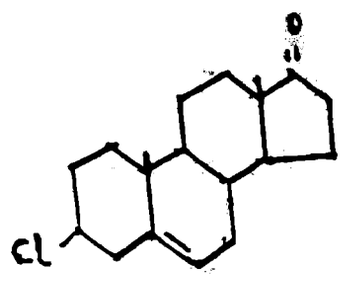
18 $C_{19}H_{26}O_2$



Δ^{4}-Androsteno,
3(4)-17 diona

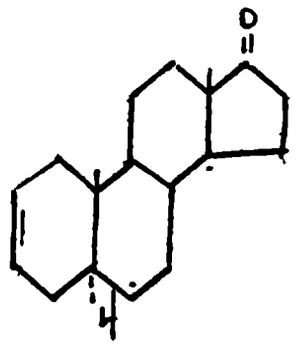
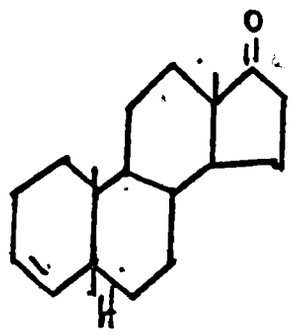
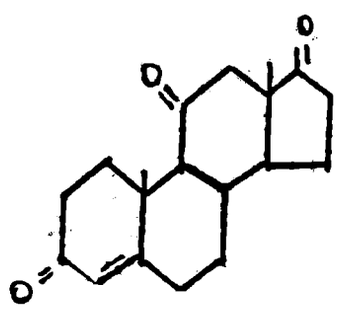
Hallado en hombres con hiperplasia
corticosdrenal.

19 $C_{19}H_{27}OCl$



3 Cloro.Δ^{5}-Androsteno-
17-ona.

Hallado en orinas diversas. Parece
que proviene de la hidrólisis con
HCl de diversos conjugados. Butenandt y Dannenbaum (1934) lo consideran como un artefacto, a partir
de la Dehidroisoandrosterona.

20	$C_{19}H_{28}O$		Δ^{2-3}-Androsteno-17 ona		Dorfman y Shipley, lo consideran un artefacto a partir de la Androsterona o Isoandrosterona.
21	$C_{19}H_{28}O_2$		Δ^{3}-Androsteno-7-ona		Dorfman y Shipley lo consideran un artefacto a partir de la Androsterona o Isoandrosterona.
22	$C_{19}H_{24}O_3$		Δ^{4}-Androsteno-3, 11, 17 triona	Adrenosterona	Aislada por Reichstein de la corteza adrenal. Posee 1/5 de la actividad de la Androsterona.

tas determinaciones métodos cromatográficos, haciendo la extracción en la orina y elución posterior en una columna de óxido de aluminio y silicato de magnesio.

Estos autores comprobaron que existe correlación entre la constitución química y el orden relativo de elución. Así los derivados de la serie allo (anillo A - B trans) son eliminados siempre antes que los correspondientes derivados de la serie normal (anillo A - B cis). Reglas similares se cumplen para los esteroides que son precipitados por digitonina. (Ver Tabla nº VI)

La acción del ácido y el calor empleados en los métodos de extracción provocan la formación de compuestos a partir de esteroides urinarios naturales. Esos compuestos así originados, algunos autores como Dorfman y Shipley (1951) los denominan "artefactos".

Butenandt y Dannenbaum (1934) aislaron por sustitución del grupo hidroxilo del carbono 3 por un átomo de cloro, la 3 cloro-androsterona.

Venning y col. (1942), consiguieron convertir el sulfato de Dehidroisoandrosterona por hidrólisis con ácido clorhídrico en 3 cloro Δ^5 androsteno- 17 ona.

También se pueden obtener "Artefactos" por oxidación. Así Talbot y Lidingon (1944), Butler y Marrian (1933) y Lieberman y Dobriner (1945), establecieron que en la orina humana existen productos de 21 átomos de C., con un grupo hidroxilo en el C-17, que se origina por degradación de los 17-cetoesteroides, durante el tratamiento en caliente con ácidos minerales.

Estos productos son: el pregnano 3(α), 17, 20 triol y el pregnano 3(α), 17 diol- 20- ona.

Una última clase de "artefactos" es la

TABLA Nº VI

E.T.R. IDOS TALLADOS POR LIEBERMAN Y COL. POR ÓRDEN DE ELUCIÓN

DERIVADOS (α)

$\Delta^{3,5}$ Androsteno - 17 ona

$\Delta^{2,3}$ Androsteno - 17 ona

3 Cl. Δ^{5} Androsteno- 17 ona

Acet.de 3 Etiocoleno- 3(α) ol- 17 ona

Acet.de 3 Δ^{11}.Androsteno- 3(α) ol- 17 ona

Acet.de Androsterona

Allo-Pregnano- 3,20 diona

Pregnano- 3,20 diona

Androstano 3,17 diona

Etiocoleno 3,17 diona

Δ^{4}-Androsteno 3,17 diona

Allo-Pregnano 3(α) ol - 20 ona

Pregnano 3(α) ol, 20 ona.

Androsterona

Δ^{9}-Androsteno- 3(α) ol- 17 ona.

Δ^{9}-Etiocoleno- 3(α) ol- 17 ona.

Etiocolano- 3(α) ol- 17 ona.

Androsteno- 3(α) 11(β) diol- 17 ona

Etiocolano 3(α) ol, 11, 17 diona

Pregnano, 3(α), 17(α) diol, 20 ona

Allo pregnano 3(α), 6, ol, 17 ona.

ENDIANDRONA (β)

$\Delta^{2\ 6\ 3}$Allo pregneno- 20 ona

Allo-pregnano 3(β) ol- 20 ona.

Iso-androstorona

Dehidroisoandrostcrona

se obtiene por deshidratación, entre los que tenemos: $\Delta^{2\ 6\ 3}$-Androstano-17 ona; $\Delta^{3,5}$-Androstandiono- 17 ona y la $\Delta^{9\ u\ 11}$-Androstano 3(α) ol- 17 ona. Ver Tabla Nº VII.

Merecen citarse además del trabajo de Liberman y col. (1948), que emplea la cromatografía, los trabajos de Fond (1951); Dingemanse, Huis 't Veld y Hartogh-Katz (1952); Burton, Zaffaroni y Kentsmun (1951); Rubin, Rosenkrantz, Korfman y Pincus (1953); Henry y Thevenet (1953) y Ferrini y Zacco (1955).

TABLA Nº VII

ARTEFACTOS

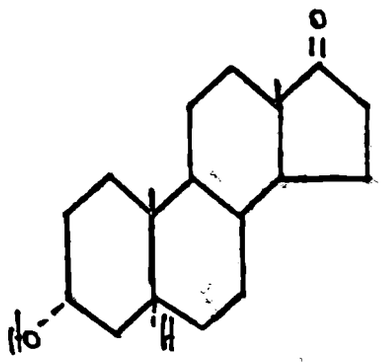
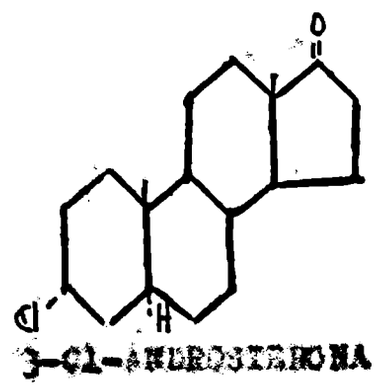
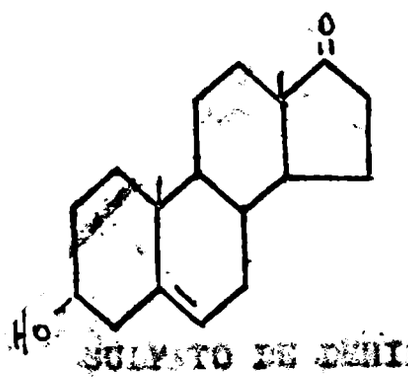
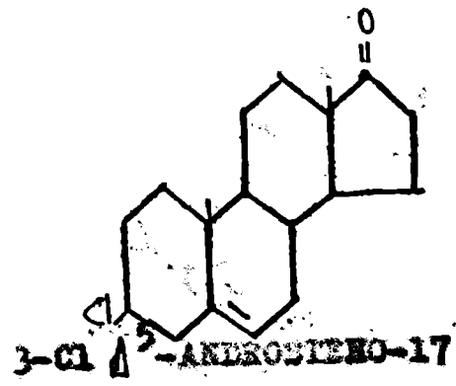
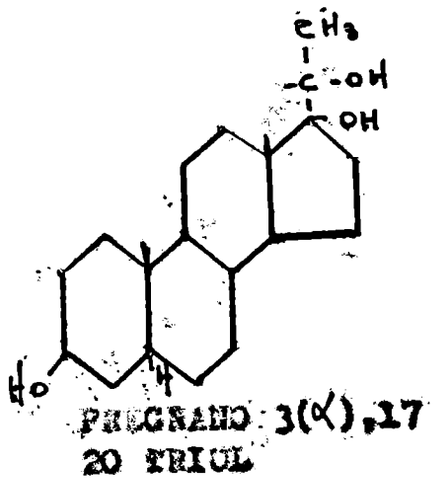
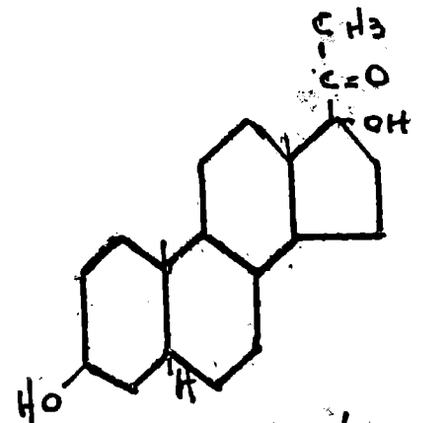
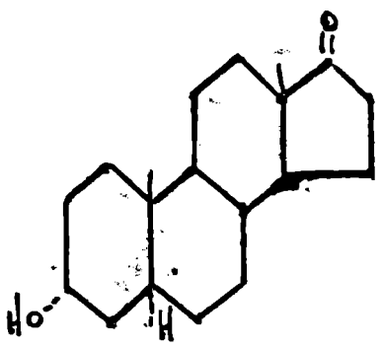
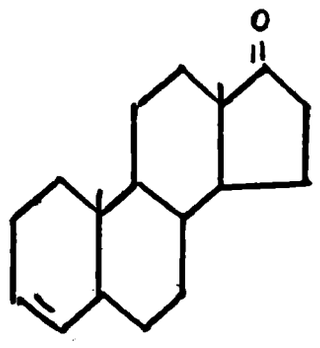
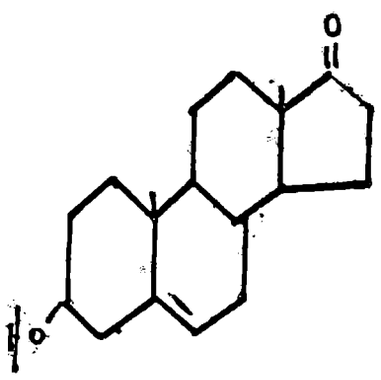
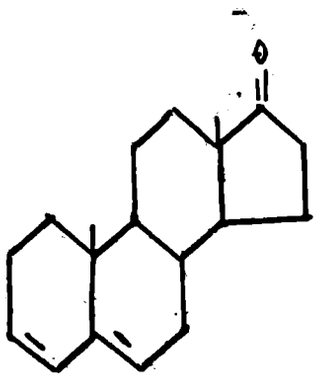
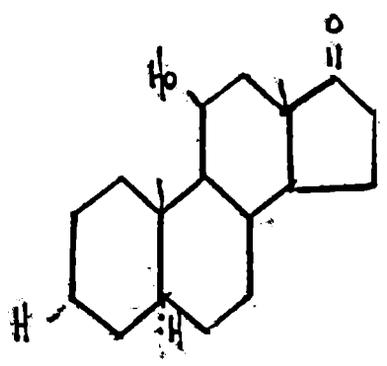
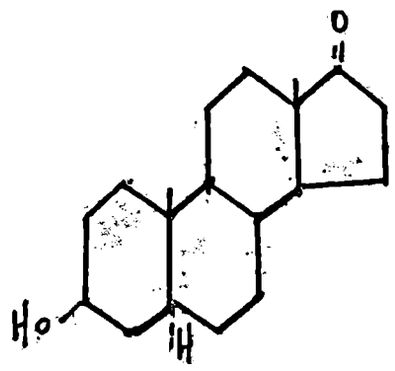
	COMPUESTO ORIGINARIO		ARTEFACTO
POR SUBSTITUCION	 ANDROSTERONA	Hidrólisis con HCl →	 3-Cl-ANDROSTERONA
	 SULFATO DE DEHIDRO-ISOANDROSTERONA	Hidrólisis con HCl →	 3-Cl Δ^{5}-ANDROSTENO-17 ONA
POR DEGRADACION	17-CETOESTEROIDES	Hidrólisis en → con Ácidos minerales	 PREGNANO 3(α),17 20 TRIOL
			 PREGNANO 3(α),17 DICL-20 ONA

TABLA Nº VII (cont.)

REACCIONES

COMPUESTO MATERIAL	REACCIONES	PRODUCTOS
 SULFATO DE ANDROSTERONA	Hidrólisis con HCl →	 $\Delta^{5\alpha 3}$-ANDROSTENO-17 ONA
2ºA DEHIDRATACION		
 HEMIDROISOANDROSTERONA	→	 $\Delta^{3,5}$-ANDROSTADIENO-17 ONA
 11-HIDROXI-ANDROSTERONA	→	 Δ^{9-11}-ANDROSTENO 3(α)OL-17 ONA

- CAPITULO II -

ACCION DE LOS 17-CETOESTEROIDES NEUTROS SOBRE LA PRESION. LAS GLANDULAS SUPRARRENALES: ANATOMIA, HISTOLOGIA Y EMBRIOLOGIA COMPARADAS. RELACION A LA CORTEZA ADRENAL.

No hay glándula de secreción interna, que produzca mayor número de enfermedades en el organismo que la glándula adrenal (Pincus, 1955).

Los 17-cetoesteroides neutros son componentes de naturaleza esteroidal y tienen en la mujer su origen en la corteza de las glándulas adrenales. Veremos en este capítulo lo relacionado con la Anatomía, Histología, Embriología e Histoquímica de estas dos pequeñas glándulas.

Las glándulas adrenales o adrenas son órganos endocrinos, cuyas funciones tienen importancia fundamental para mantener la vida (Houssay y col. 1951).

Si bien la existencia de estas glándulas se conoce desde hace varias centurias su importancia y rol extraordinario en el organismo solamente ha sido reconocido en el último cuarto de siglo (Kendall, 1952).

Estas glándulas han recibido distintas denominaciones y aun hoy es frecuente que algunos autores al referirse a ellas, hablen de "cápsulas suprarrenales". El término cápsula es incorrecto pues indica que la glándula está hueca y esto ocurre en las autopsias, debido a una licuefacción cadavérica que puede producirse por autolisis cadavérica y que no existe en el animal viviente o recien muerto Malpighi (1667).

En lo que respecta a la denominación de "suprarrenales", solo es válida en pocos animales típicos, como el hom-

bre mientras que el de "adrenales" es aceptable en casi todos los vertebrados, pues expresa una estrecha vecindad con el riñón (Negresti, 1948 y Hartman y Bromell, 1949).

Los primeros conocimientos sobre las glándulas adrenales se tuvieron en la época de Celeno (131 - 201 A.C.).

Bartholomeus Eustachius (1520 - 1574), confeccionó cuarenta y cinco planchas de cobre, una de las cuales fué dedicada a las glándulas adrenales y que denominó "Glandulae Renibus Incumbentes", en ella se describe por primera vez, la morfología macroscópica y las relaciones anatómicas de las glándulas adrenales del hombre.

El nombre de "cápsula suprarrenal" fué empleado por vez primera por Juan Riolano "El Joven" (1580-1657).

Gaspar Bartholinus (1585-1629) y su hijo Tomás Bartholinus (1616-1680) describieron las glándulas adrenales como cuerpos redondeados que eran diferenciables de los riñones y que poseían una cavidad sin conductos de comunicación. Ello originó el concepto de una cavidad central y el de la excreción de la bilis negra, concepto que persistió unos doscientos años. Riolano "El Joven", sin embargo, creía que las adrenales funcionaban solamente durante la vida fetal, basándose en su mayor tamaño durante dicho otapa. Esta creencia tuvo partidarios durante muchos años.

Las funciones fisiológicas de las glándulas suprarrenales dieron origen a interpretaciones fantásticas y aún a ideas absurdas. Nicollini, creía que solo se trataba de simples fragmentos de tejido renal duplicados. Spigelio, consideraba que su única misión consistía en el relleno de la cavidad abdominal y en servir de soporte al estómago. Para Riolano, las glándulas adrenales actuaban de soporte a los plexos nerviosos del abdomen lubricando la contracción de los vasos renales y según Sil-

vio, estos órganos evitarían la coagulación de la sangre. Aun - en pleno si lo XVIII, Senac sugirió la hipótesis de que los adrenales elaboran el meconio fecal y Von Helmot admitió que segregarían una substancia capaz de evitar la formación de cálculos renales.

Entre el caos imperante sobre las funciones y - la morfología del aparato adrenal, emerge la genial intuición de Wharton, quien relaciona estrechamente la fisiología de estos - órganos con la función de los plexos nerviosos del abdomen y -- descubllan los estudios de Malpigio, quién en 1678 reconoció la ausencia de la cavidad central y la presencia en la zona medular de elementos estructurales distintos a los de la cortical - (Cendel 1953).

Valsalva (1666-1723) creía que las adrenales -- formaban parte del sistema reproductor y describió conductos - que las conectaban con los epidídimos y con el ovario.

En 1816 Otto, llamó la atención sobre la hipertrofia de las adrenales en el hipergenitalismo.

En 1840 George Gulliver dió una descripción histológica de la glándula e identificó la presencia de corpúsculos esferoidales en la glándula y en la sangre venosa de la misma. (Hamblen, 1950).

Thomas Addison (1849) presenta una comunicación ante la South London Medical Society en la que describe una enfermedad ya observada anteriormente por varios autores, pero sobre la cual no se había prestado mucha atención. Sus síntomas - más característicos eran el agotamiento progresivo del organismo, la debilidad del pulso y de los latidos cardíacos, la palidez del semblante y la disnea de esfuerzo. La enfermedad se iniciaba entre los veinte y los sesenta años, tenía un comienzo in

nálogo y seguía un curso crónico que,irremisiblemente conducía a la muerte. En tres de sus primeros casos Addison pudo efectuar la autopsia,hallando en todos ellos alteraciones patológicas evidentes de las glándulas adrenales. Aun cuando creyó en la posibilidad de una mera coincidencia, la constancia de su asociación, le indujo a suponer que los órganos adrenales eran indispensables para la vida y especialmente para la formación de los corpúsculos sanguíneos.

Al cabo de seis años en 1855, Addison, publicó una pequeña monografía titulada "On the constitutional and local effects of disease of the supra-renal capsules". La abundante irrigación sanguínea que reciben las adrenales, sus numerosos nervios, su precoz desarrollo en el feto, su integridad a través de toda la vida y su estructura glandular fueron los motivos por los que Addison estableció un paralelo entre dichos órganos y el tiroides, el timo y el bazo, todos los cuales creyó que intervenían en la elaboración de los elementos de la sangre. Las lesiones destructivas de las glándulas adrenales darían lugar al desarrollo de una anemia progresiva y letal, con las características de debilidad y agotamiento generales ya mencionados y una pigmentación pardo bronceada o cabarina de la piel de todo el cuerpo, pero especialmente marcada, en la cara, el cuello, en las manos, en los órganos sexuales y en las axilas.

Trousseau al poco tiempo dió a conocer sus primeras observaciones clínicas sobre la"enfermedad de Addison" y Brown Sequard en 1856, estudia la serie de trastornos que provoca la extirpación experimental de estas glándulas en los conejos, e incluso la muerte provocada por la adrenalectomía total. Este investigador decía que la extirpación unilateral de la - -

glándula era suficiente para provocar la muerte del animal, hoy sabemos que esto no es cierto pues la otra glándula suple la pérdida de su congénere, experimentando una hipertrofia compensadora.

Los resultados de Brown Séquard, aceptados y negados por sus contemporáneos, hallaron su corroboración definitiva en los trabajos de Abelous y Langlois quienes demostraron que las extirpaciones que a veces se observan después de la suprarrenalectomía son debidas a la presencia de glándulas suprarrenales accesorias. En el mismo año de 1856 Vulpian, fisiólogo francés, descubrió que la médula adrenal y la sangre de las venas adrenales eran de un color esmeralda, característico con el percloruro de hierro y un color rosado cereza al ser tratada por el yodo.

Henle en 1865 observó que los gránulos protoplasmáticos de las células medulares se tiñen de color rojo pardo al tratar el tejido adrenal con una solución diluida de bicromato de potasio.

Gley, Kolliker, Braun, Kohn y otros llevan a cabo importantes contribuciones a la morfología, histología y embriogénesis de la médula y córtex adrenal.

Thornton en 1890, refiere la primera suprarrenalectomía en un caso de virilismo adrenal. Una mejoría temporal fué seguida al cabo de dos años de una recaída mortal por carcinoma de la adrenal restante.

El descubrimiento del efecto vasopresor de la adrenalina según Hartman y Brownel (1949), fué realizado independientemente en 1894 por Oliver y Schäfer y por Cybulski y Szymonowicz en 1895, quienes iniciaron una larga serie de investigaciones, sobre la función de la hormona de la glándula adrenal.

En 1895 Moore identificó la substancia hiperten

silva de la médula adrenal con los corpúsculos enteroidales descriptos por Gulliver y Vulpian. Estas granulaciones cromógenas fueron llamadas desde entonces "cromafines", "cromófilas" o - - "pheocromos", del griego φαιός: obscuros y χρῶμα: color.

En 1896 Arnenkel aisló el principio activo medular. En 1897 y 1901, los estudios fundamentales de Abe sobre la epinefrina a la que se dió este nombre, condujeron simultáneo e independientemente a Takamine y a Aldrich a su aislamiento en forma cristalizada. Aldrich estableció su fórmula química y su estructura.

En 1904, Stolz sintetizó la epinefrina.

En 1905 Bulloch y Sequeira relacionan los tumores de la adrenal con la pubertad precoz y la virilización.

El descubrimiento de la adrenalina, fué causa de que disminuyera el interés hacia las funciones del tejido cortical. La clínica primero, demostrando que la hormona medular era incapaz de aliviar a los pacientes con enfermedad de Addison y la experimentación después, demostrando que dicha hormona no bastaba para mantener con vida a los animales adrenoprivos, - - obligaron a proseguir los estudios. Stewart en 1924 demuestra - que la corteza es la parte de las glándulas adrenales esencial para el mantenimiento de la vida, pero se vé obligado a confesar que todavía se ignora por completo en que forma actúa. Los trabajos de este autor y de Rogoff provocaron un incremento - en las investigaciones sobre la corteza. Stewart y Rogoff - - - (1929) encontraron que el tiempo de sobrevida de los perros después de la adrenalectomía doble completa, era de diez días y el tiempo máximo, de quince días. También demostraron que la vida de estos animales podía prolongarse por la inyección de un extracto cortical combinado con una transfusión salina. Hartman -

en el mismo año obtuvo también un extracto al cual llamo "cortina". Swingle y Pfifner (1930) extrajeron de la corteza en 1930 por medio de los disolventes de los lípidos una substancia muy potente que contrarrestaba los efecton de la estirpación adrenal y de beneficiosas consecuencias en la enfermedad de Addison

Britton y col. en 1932-1938 estudian el papel de la glándula adrenal en el metabolismo hidrocarbonado.

En 1933 S.F.Loeb y col. destacan la influencia de la corteza adrenal sobre el metabolismo de los electrolitos.

Kendall y sus discípulos en 1934 a 1939 aislan nueve compuestos esteroides de la corteza adrenal, incluído el "compuesto E" o "cortisona".

Kroster y Vimen describen la reacción fuchsinófila en la adrenal del feto normal y en la adrenal de los sujetos con adrenogenitalismo (Hamblen, 1950).

En 1934 Hinterteiner, Vara y Pfiffner, preparan una fracción amorfa de la corteza adrenal del buey de extraordinaria actividad biológica (Ingle, 1951).

En 1937 Steiger y Reichstein logran la síntesis del acetato de desoxicorticosterona.

En 1938 Reichstein y Euw aislan la desoxicorticosterona de las adrenales del buey.

En 1939-1940 Thorn y sus colaboradores emplean la implantación de comprimidos de acetato de desoxicorticosterona en el tratamiento de la enfermedad de Addison.

En el período que va de 1940 a 1949 Sayers y Sayers aislan la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) en forma purificada y Thorn y Forsham (1951) observan que los esteroides corticosuprarenales provocan retención de sodio y de cloro por el riñón y glándulas sudoríparas, con aumento de excreción de potasio.

Albright demuestra que los enteroidon corticoadrenales provocan retención de nitrógeno, acompañado de efectos masculinizantes.

Long observa que los corticoenteroidan provocan un ahorro de los hidratos de carbono, con aumento de la utilización de las grasas y proteínas de la dieta.

Browne observa que el ACTH, es capaz de producir los efectos asignados a las tres categorías de hormonas adrenaleo en el hombre y Bacon, Power, Hymanson, Ciarenolli, Li, Evans y Porter, establecieron que el aumento en la formación de la hormona androgena o "H" por la corteza adrenal, va acompañado de un aumento en la excreción de los 17-cetoesteroides urinarios.

En 1950 Hans Selye después de quince años de experiencias publicó su obra "Stress. The Physiology and Pathology of Exposure to Stress; A treatise Based on the concepts of the General - Adaptation - Syndrome and the discuss of Adaptation" complementada y actualizada por su "Annual Report on - Stress" aparecido en Agosto de 1951. En esta obra Selye establece que la reacción al "Stress" (acción inespecífica sobre el organismo, común para todos los agentes patógenos) provoca un "agrandamiento de la corteza adrenal", con signos histológicos de hiperactividad, involución del tejido linfático y además típicas manifestaciones de shock. Llamó la atención de Selye el hecho de que, en tanto casi todo el organismo ofrecía trastornos involutivos o degenerativos, la corteza adrenal mostraba signos de hiperactividad de lo cual dedujo que debía desempeñar un papel útil en la reacción frente al "Stress". Consecutivamente, estableció el concepto de que esta reacción, constituía un "llamado a las armas" de las fuerzas defensivas del organismo y acuñó el término "Reacción de Alarma" que consta de dos fases "shock"

y "contra shock" y que tanta trascendencia debía adquirir encaminado (Selye H. 1950).

Investigaciones ulteriores demostraron a Selye que la Reacción de Alarma constituye en realidad, solo la primera etapa o estudio de un conjunto de cambios más complejos y prolongados, integrados con un "estadio de resistencia" y otro de"agotamiento" al cual dió la denominación de "síndrome general de adaptación" y que comprende el conjunto de reacciones del organismo durante el "stress".

Las demostraciones experimentales de Selye y su vasta concepción doctrinaria, se vieron reforzadas a partir del año 1949 por importantes contribuciones clínicas. Desde ese año se ha podido disponer de cantidades adecuadas de un potente corticoide segregado por la corteza adrenal la "cortisona" y también de una hormona del lóbulo anterior de la hipofisis, la corticotrofina o ACTH, que en manos de Hench, Kendall y sus col. de la clínica Mayo, se mostraron muy eficaces en el tratamiento de la Artritis reumatoidea y la fiebre reumática como así también en innumerables trastornos (Pasquelini H. 1952).

Reichstein T. (1950) después de muchos años de investigación ha hecho aportes valiosísimos en el esclarecimiento de la constitución química de los esteroides corticosuprarenales y conjuntamente con Hench Ph. y Kendall E. recibió el Premio Nobel para Fisiología y Medicina de 1950, por los trabajos químicos y clínicos sobre estos esteroides, como ya lo expusimos en el capítulo anterior.

La concepción de Selye y la aplicación clínica de hormonas como la ACTH, cortisona o compuesto E, el compuesto F y los mineralo corticoides, dotadas todas de extraordinaria actividad biológica, han elevado a la glándula adrenal y a todo lo

que con ello se relaciona a un lugar preponderante en el estudio de la Fisiología y Endocrinología modernas.

ANATOMIA, HISTOLOGIA Y EMBRIOLOGIA GLANDULAR

Las glándulas adrenales, son órganos pares situados uno a cada lado del cuerpo, cerca del riñón. En la especie humana son dos órganos aplanados situados en el espacio retroperitoneal, uno a cada lado y en estrecha relación de vecindad -- con el polo superior de ambos riñones, de los que están separados por un tejido conjuntivo laxo.

La adrenal derecha tiene una forma triangular y por su cara anterior, se relaciona con la vena cava inferior y - con el hígado.

La adrenal izquierda tiene una forma semilunar, alargada hacia abajo, se apoya sobre el borde interno del riñón llegando a veces hasta el nivel del hilio y a tocar los vasos - renales. El peritoneo recubre la cara anterior de esta glándula.

Estas dos glándulas están relacionadas por su superficie posterior con las inserciones del diafragma, en la región dorso lumbar.

En lo que respecta a la localización de estas - dos glándulas, cabe establecerse que dada su vecindad con el polo superior del riñón, su posición guarda relación con la de - te órgano. Se dice, que las adrenales están situadas a la altura de la undécima o duodécima vértebras dorsales y llegan hasta la primera vértebra lumbar.

La superficie de las adrenales es irregular y - presenta numerosas prominencias y surcos, lo cual le confiere - un aspecto rojizo. Un tejido conjuntivo adiposo que forma parte del tejido graso que envuelve los riñones, uréter y protege las glándulas adrenales (Calandel 1933).

Las glándulas adrenales, ofrecen variaciones notables de tamaño en las distintas etapas de la vida intra y extrauterina.

En los primeros meses de la vida intrauterina - el volumen de las adrenales, supera considerablemente al de los riñones, pero en el sexto mes sin embargo, el riñón duplica ya a las suprarrenales. En el recién nacido, las adrenales poseen cerca de un tercio de la dimensión de los riñones, mientras que en el adulto constituyen alrededor de un vigésimo octavo del tamaño - de esos órganos (Bailey, 1946).

El proceso de involución, continúa después del - nacimiento hasta los seis meses de edad. A partir de entonces - aumenta el volumen adrenal alcanzando hacia los doce años las - mismas dimensiones y peso que tenía en el recién nacido.

En la vejez se observa un ligero proceso de - crecimiento, disminuyendo ligeramente el tamaño de ambas glándulas.

Algunos autores como Goldzieher (1943) han verificado estudios sobre el espesor de las adrenales. Dice este autor que en el 6° mes de la vida fetal el espesor de una adrenales es de 11 mm y en el recién nacido es de 10. Posteriormente solo alcanzan unos 6 mm, mientras que en el joven y en el adulto, llega nuevamente a 10 y en el viejo descendiendo hasta 9 mm. La altura media de las adrenales del adulto es de 50 mm la izquierda y de 49 la derecha. La primera posee una anchura de 32 y la segunda de 33 mm.

El peso de ambas adrenales oscila según fonde entre límites bastantes amplios (7 y 20 g). Goldzieher citando a Wheel, indica los siguientes valores

	Peso medio en gramos	
	Varones	Hembras
Recién nacido	4.7	5.0
Menor de un año	3.3	4.0
Adultos	11.2	10.6

Bailey citando a Sommon dice que en los primeros ocheros días de vida post natal, esta disminución alcanza a un tercio de su peso al nacimiento y en los primeros cuatro meses llega a la mitad, la pérdida de peso se debería a la degeneración de la parte interna de la corteza. Al nacimiento la corteza consiste en una zona exterior delgada, que proliferará y formará la corteza del adulto, y una zona interior maciza, destinada a degenerar. Después del nacimiento esta zona interna experimenta degeneración grasa, se vuelve hemorrágica y desaparece.

Calledel (1953) dice que en la senectud se observa un ligero proceso de regresión y disminuye ligeramente el tamaño de ambas glándulas.

Segresti (1948) señala que llegado el climaterio femenino se observa un aumento de actividad adrenal, lo que se confirmaría por el aumento de los 17-cetoesteroides urinarios y por los cambios que tienen lugar en la zona cortical. Se produciría una verdadera hiperplasia cortical con la formación de nuevos nódulos, los cuales se suman a los ya formados presentes en las glándulas de las mujeres con un cierto número de embarazos. Estos nódulos tienen actividad incretora, lo que explica el aumento de segregación comprobado por la mayor eliminación de los 17-cetoesteroides a pesar de la cesación de la actividad sexual.

Se ha comprobado también que con la vejez, se producen una serie de modificaciones anatómicas e histoquímicas, que muestran una paulatina disfunción funcional en la corteza adrenal. Se observa así una disminución del tamaño en lo que respecta al ancho y espesor, aunque la longitud se mantiene mas o menos constante.

Lo esto resulta una disminución de volumen más remarcable en los hombres que en las mujeres debido a la permanencia en estas últimas de los nódulos hiperplásicos de la menopausia y embarazo. Esta disminución de volumen,no se ve acompañada de disminución de peso, ya que éste se mantiene entre límites más o menos constantes y la resultante es un aumento de peso específico, lo que puede relacionarse con la disminución del contenido lipoídico y el reemplazo del mismo por tejido conjuntivo. A esto debe agregarse el mayor contenido de substancias minerales y la pérdida de agua (Lagrasti, 1943).

Según Cañadel (1951)en algunas especies animales, las adrenales del macho, son mayores que las de la hembra (cobayo, hámster). Mientras que en otras ha sido comprobado el fenómeno inverso (perro, gato, ratón).

En lo referente a la especie humana los resultados de los distintos autores son contradictorios. Swingard por ejemplo observa que las adrenales del varón son mayores que las de la mujer. Freeman al contrario afirma que las adrenales de la mujer son mayores que las del hombre.

Anderson y Kennedy (1932) y posteriormente Telper man y col. (1943) han observado que el peso de las adrenales de la rata, sufre variaciones cíclicas alcanzando su valor máximo en el momento del estro. Baker ha encontrado que en el perro la corteza y la médula se hipertrofian durante el período de celo.

Josime y Muckerman (1940) han confirmado las observaciones de - los autores anteriormente citados, encontrando que durante el - estro de las ratas, existe una marca/da hipertrofia de las célu- - las corticales, con aumento de sus inclusiones lipoideas y fran ca hiperplasia de toda la zona fasciculada. Finalmente Koota - (1949) ha observado también en las ratas que la excreción urina ria de 17-cetoesteroides no fenólicos presenta fluctuaciones - que guardan una estrecha relación con el ciclo ovárico, corres- pondiendo la máxima eliminación al estro. La excreción de 17-cs toesteroides en la mujer normal es siempre constante, pero éllo no basta para negar la posible existencia de variaciones anatómicas o funcionales de las glándulas adrenales en relación con la actividad gonadal. El mismo Koota, en algunas mujeres afectadas de hirsutismo esencial, ha visto en la eliminación de 17- - cetoesteroides neutros, variaciones periódicas análogas a las de los roedores, correspondiendo la máxima excreción a los días en que tiene lugar el desprendimiento del óvulo. En el embarazo - existe un ligero aumento de tamaño de la cortical, con aumento de los lipoides de la fasciculada y de la reticular. Esta hiper plasia difusa de la corteza, es una alteración funcional transi toria que desaparece al terminar la gestación. En la toxicosis gravídica según Goldzieher, esta reacción hiperplásica es substituída por atrofia de las células de las fasciculada y de la - reticular, degeneración de sus núcleos, edema y hemorragias intersticiales.

Cápsula de las Adrenales: Las adrenales tienen una - cápsula de tejido conjuntivo, en la que se encuentran arterias, capilares y venas. A partir de élla cordones de tejido conjunti vo, capilares y arterias, penetran en la corteza y corren hacia la médula.

Estructura Interna: Un corte llevado a cabo en la - - glándula adrenal permite distinguir macroscópicamente, dos zo-

nas de coloración diferente. Una porción externa de coloración amarillenta llamada corteza y una interna de color rojo intenso llamada médula. La corteza rodea por completo a la médula.

Irrigación: Las adrenales son órganos que se encuentran entre los más vascularizados de la economía (Gaskell, 1953; Talley, 1946; Rouvey, 1946).

La sangre llega a las adrenales a través de la arteria adrenal media, rama de la aorta abdominal; por la arteria adrenal superior, rama de la arteria frénica y por la arteria adrenal inferior que parte de la renal. La arteria adrenal media o principal penetra en el espesor de la glándula, por el hilio, mientras que la superior e inferior, se ramifican por la superficie de la misma. Las arterias superior e inferior irrigan especialmente la cortical, mientras que el aporte sanguíneo de la medular corre a cargo de la arteria media. Existen sin embargo anastomosis en la zona más interna de la corteza que non en comunicación ambos sistemas de irrigación.

La circulación de retorno se inicia en los capilares de la médula, los cuales se unen para formar capilares sinusoides que convergen hacia el centro de la región medular y desaguan en las pequeñas venas centrales. Estas se reunen hacia el hilio en las llamadas venas centrales grandes, las cuales a su vez desembocan en la vena central. En el lado derecho esta vena termina en la cava inferior, mientras que en el izquierdo, desagua en la vena renal. Las venas centrales grandes están provistas de haces musculares de dirección longitudinal y notable desarrollo. Según Lechner (1933), la estimulación del simpático relaja estas fibras musculares y amplía el calibre de las venas centrales, mientras que la estimulación del para-simpático causa su contracción y oclusión.

El cierre de los esfínteres venosos medulares -

obliga al paso de la sangre a través de la corteza y a su consiguiente final por la red venosa superficial, la cual termina desembocando en el plexo-perirrenal. La relajación de los haces musculares perivenosos revierte la circulación de retorno hacia la vena adrenal. Aun cuando no está completamente aclarado, se supone que los dos circuitos venosos periférico y medular y los haces musculares de las venas centrales, intervienen regulando la entrada a la circulación general de la adrenalina.

La sangre que entra y sale de las adrenales del perro ha sido calculada por Barton-Opita y Edwards en 4,9 ml de sangre por gramo de tejido glandular y por minuto.

Según Houssay y Molinelli (1926) por las adrenales pasan 5,3 a 6,4 ml de sangre por gramo de adrenal de perro y por minuto, que corresponden a 0,34 ml por kg de peso corporal y minuto.

Los vías linfáticas de las adrenales forman dos plexos, uno subcapsular y otro medular. El plexo periférico desemboca en los linfáticos perirrenales, mientras que el medular sigue el sistema venoso central.

En general se puede decir que los vasos linfáticos forman numerosas redes capilares, en el interior del tejido conjuntivo. Están en estrecha relación tanto con las células de la corteza como con las de la subtunica medular, llegando frecuentemente a envolver con sus mallas las células glandulares (Szymonowicz y Krause, 1935).

Inervación: Las adrenales poseen abundante nervios. La inervación de las adrenales proviene del plexo celíaco, de los plexos frénico y renal y directamente del esplácnico (Brandel, 1953; Bailey, 1940; Szymonowicz y Krause, 1935).

Los filetes nerviosos entran en la glándula por su base y por su borde interno. Todos estos nervios se dirigen

hacia la médula sin inervar la región cortical. Bailey (1946) dice que algunas fibras están distribuídas por la corteza pero la gran proporción pasa a la médula.

Las fibrillas nerviosas que van a la médula -- son preganglionares y degeneran después de la sección de los esplácnicos.

Las fibras nerviosas intraglandulares forman a modo de plexos que rodean grupos de células medulares. Partiendo de dichos plexos, salen numerosas fibrillas que terminan poniéndose en contacto con las células cromafines.

Los filetes nerviosos destinados a las adrenales según Young (1939), abandonan la médula espinal en forma - que la extremidad cefálica de la glándula recibe las fibras surgidas de los segmentos espinales superiores.

Según Houssay (1951) el simpático inerva principalmente a la médula adrenal, tiene funciones vasomotrices y -- adrenalino secretoras, ejerciendo una acción tónica continua sobre la secreción de la adrenalina. Por eso al cortar las fibras simpáticas, se reduce a vestigios la secreción de adrenalina - (Lewis). Hay algunas fibras del vago que llegan a las adrenales, pero se desconoce su papel.

La afirmación tan repetida de que la denervación adrenal produce atrofia adrenal (Rendo) es completamente - inexacta (Branco, Hermann) y cuando esta se produce es porque al seccionar los nervios, se destruyen las arterias nutricias - adrenales.

Glándulas Adrenales Accesorias:

Las llamadas glándulas adrenales accesorias son - lo mismo tejido cortical (Houssay, 1951).

Son formaciones nodulares compuestas por tejido cortical y medular que representan verdaderas glándulas adrena-

les en miniatura, de carácter accesorio (Cañadel, 1953).

Las adrenales accesorias son muy raras en algunas especies (perro, gato y bóvidos), mientras que en otros son frecuentes (conejo) o constantes (rata blanca). En el hombre se han encontrado en el hígado, páncreas, riñón, epidídimo, ligamentos ancho y para ovario.

Estas glándulas accesorias suelen radicar en la vecindad de las adrenales principales, sumergidas en el tejido adiposo perirrenal o bien unidas a las propias glándulas adrenales principales, formando nódulos pedículados que hacen relieve en su superficie.

Las formaciones aisladas compuestas exclusivamente por tejido medular no constituyen en realidad verdaderas glándulas accesorias. Por su estructura y su función entran a formar parte del sistema cromafín. Estos corpúsculos o paraganglios son muy numerosos y se encuentran diseminados por todo el organismo, especialmente en la cara anterior de la aorta abdominal (órgano de Zuckerkandl), en la punta del cóxis (glándula de Luschka), alrededor de algunos vasos y en los ganglios simpáticos del tórax y del abdomen.

Los nódulos formados únicamente por tejido cortical, se observan raríssimas veces en la especie humana, pueden hallarse en la cavidad pelviana, en el espesor de los ligamentos anchos del útero, a lo largo de las vías génito urinarias, en las paredes de la vagina, en el escroto e incluso en el hígado y en páncreas y reciben el nombre de nódulos de Marchand.

Histología:

Las glándulas adrenales de los mamíferos constan de dos partes completamente diferentes. Ya macroscópicamente se puede distinguir en la adrenal humana y en los mamíferos una "substancia medular" de color rojo obscuro y una "substan-

cia cortical" amarillenta clara, que rodea completamente a la médula. El espesor de la medular representa únicamente la décima parte del grosor total de la glándula.

Corteza: La corteza está constituída por cordones de células, entre los que existen tejido reticular y capilares.

Atendiendo a que los cordones no poseen la misma forma y disposición en todo su curso, la corteza fué dividida hace ya tiempo en tres zonas: una externa la "glomerular". Una media, la "fasicular" y una interna, la "reticular" adyacente a la médula. No existe delimitación neta entre estas zonas.

En la zona "glomerular" la disposición de los cordones es tal, que se forman grupos ovoides de células. Los grupos no encierran cavidades. Las células que componen estos grupos, son citóforicas, sus núcleos relativamente grandes y de aspecto homogéneo se colorean fuertemente. Su citoplasma toma a menudo, el colorante básico aunque levemente. Estas células que rocen distribuídas de modo irregular o agrupadas, formando nidos mal definidos, cada uno de los cuales aparece rodeado de un fino estroma conjuntivo por el que circulan numerosos capilares.

Por debajo de la zona glomerular se encuentra la "fascicular", en ella los cordones corren paralelos entre sí y se dirigen hacia la reticular en líneas bastante rectas. Es la mas amplia de las tres zonas corticales. Las células de la zona fascicular, son mayores que la de la glomerular, tienen una forma prismática o poliédrica y su protoplasma presenta numerosas vacuolas lipoídeas. Estas células vacuoladas "espongiocitos", son especialmente numerosas en la parte mas externa de la fasciculada, la cual por este motivo se designa también -

con el nombre de "zona esponjosa". Las células más profundas de la fasicular poseen menos vacuolas lipoídeas y en cambio presentan gránulos protoplasmáticos eosinófilos; el conjunto de dichas células se designa con el nombre de "zona eosinófila". Las columnas celulares de la zona fascicular están separadas por una fina red de fibrillas conjuntivas que proceden de la cápsula y se dirigen hasta la médula. Los métodos de impregnación argéntica demuestran la presencia de fibras de colágeno y de reticulina, sobre actuando como aparato de sostén de las columnas celulares. Por entre las mallas del estroma, circulan los capilares sanguíneos y linfáticos. Algunos capilares de la zona fascicular se ensanchan formando amplios sinusoides intercolumnares en cuyo endotelio existen células dotadas de actividad fagocitaria absolutamente iguales a las células de Kupffer del hígado (Goldacher, 1945).

Los núcleos de las células de la fascicular son más vesiculosos y cromáticos que en la glomerular.

La capa más interna es la "zona reticular", en ella los cordones no siguen un trayecto regular sino que se dirigen oblicuamente hacia la médula, formando de este modo una red de mallas irregulares, cuyos intersticios están ocupados por tejido conectivo y vasos sanguíneos. Las células son cúbicas, poligonales o cúbicas y de menor tamaño que las que constituyen la fascicular. Su protoplasma presenta finas gotas de substancias lipoídeas y abundantes cantidades de pigmento, posiblemente melanina o lipofuscina, cuya presencia se interpreta como signo de degeneración y envejecimiento celular. Las células especialmente en la parte interna (yuxta medular) de la reticular contienen mucho pigmento. Con frecuencia poseen núcleos intensamente coloreados.

Según Kelley (1946), la distribución en zonas que se acaba de describir se funda sobre todo en la disposición de los cordones celulares. De acuerdo a los tipos de células, - se ha descripto una distribución algo distinta (Coormaghtigh). Según estos estudios, en el hombre la corteza se divide en cuatro regiones. La más externa está constituída por la glomerular. La siguiente incluye los dos tercios periféricos de la fascicular y está compuesta por espongiocitos; esta zona contiene lipoides lábiles. Por dentro de esta hay una zona integrada por la porción interna de la fascicular y mucho de la reticular; - el citoplasma de las células superficiales de esta zona es tibio con hematoxilina férrica: "células eidorófilas". Las otras células son pálidas y tienen una granulación fina; algunas de estos gránulos son mitocondrias; estas células no contienen lipoides. La cuarta zona forma alrededor de 1/3 de la corteza y comprende sólo la parte mas interna de la reticular. Las células de esta región son pigmentadas. El pigmento se dispone habitualmente en anillos de manera que algo del citoplasma aparece claro. Estos pigmentos se colorean con ácido ósmico. Lo acentuado a que estos gránulos sean escasos o abundantes, las células aparecen claras u obscuras en las preparaciones hechas con la técnica habitual o en las tratadas con ácido ósmico.

En la zona glomerular algunas veces se observan células en proceso de partición mitósica. Nelson y Swenson - - - (1941), sugieren que la proliferación de las células de la glomerular da origen a elementos de tipo indiferenciado, los cuales son lentamente empujados hacia la zona fascicular a medida que completan su proceso de maduración. En el transcurso de su emigración, las células corticales van degenerando progresivamente, perdiendo sus inclusiones lipoídicas citoplasmáticas, —

cargándose de pigmentos y transformándose en células reticulares. La zona glomerular tendría la significación de una zona "germinativa y neogénica", la fasciculer representaría la zona "secretora" y la reticular la zona "degenerativa".

Los gránulos y vacuolas lipoideas (lipocromos) son solubles en el éter, la acetona, el xilol y la mayor parte de los solventes orgánicos. Se tiñen con el sudan III, el rojo escarlata y el azul de Nilo y se ennegrecen con el ácido ósmico. Según Fleaner y Grollman (1939), el aumento de la actividad cortical se asocia a un aumento de los lipoides; mientras que la disminución de la actividad se acompaña por una reducción de los mismos. Long y Melton (1939), estudiando en la rata los efectos de la exposición al frío o de la inyección de formaldehido, observaron que durante la "fase de alarma" y en el agotamiento, las adrenales aparecen aumentadas de tamaño y tienen un color obscuro; en cambio en el período de resistencia, el color de la cortical es amarillo y sus células contienen abundantes gránulaciones lipoideas. La agresión daría origen a un estímulo cortical cuya traducción histológica, sería la hipertrofia y la depleción lipoídica, pero al desarrollarse la fase de resistencia, los requerimientos de la hormona cortical disminuirían reaparecionde con ello los lipoides intracelulares. Si la adaptación cede, las adrenales entran en la fase de agotamiento y los lipoides nuevamente disminuyen.

Bennet (1940), llevó a cabo importantes trabajos sobre los lipoides de las células corticales. Según Bennet los lipoides de las capas más externas de la fasciculada del gato presentan algunas características histoquímicas similares a las de los productos esteroideos hormonalmente activos. Estas son: primero, solubilidad en acetona; segundo, reaccionar con -

la semiurbanida y la fenilhidrazina; tercero reducir las sales de plata niquelina y cuarto formar los digitonidos.

Las vacuolas o inclusiones osmiófilas de las capas más internas de la cortical, no dan las reacciones que acabamos de mencionar y por lo tanto no son consideradas como expresión morfológica de un depósito hormonal. Estudia además Bonnet, la estructura del núcleo celular, el citoplasma, mitocondrias, aparato de Golgi, vacuolas lipoides y pigmentos de las células de la zona cortical, fundándose en estos estudios el autor propone la división de las capas de la corteza en las siguientes zonas: prosecretora, secretora, postsecretora y senescente..División que no coincide con la de Arnold de: glomerular, fascicular y reticular. La zona prosecretora correspondería a la capa glomerular de la división de Arnold. La zona secretora a la parte superior de la fascicular. La zona post-secretora a la parte inferior de la misma capa y la zona senescente a la reticular.

Estas distintas capas estarían íntimamente vinculadas a la secreción de los distintos corticosteroides segregados por la corteza adrenal como veremos más adelante.

La parte central de las adrenales está ocupada por la médula. No existe una zona de tejido interticial que separe por completo las células de la zona reticular cortical de las células de la médula, ni una línea de demarcación bien definida entre ambos tejidos. El tejido medular y el tejido cortical se interpenetran y es posible observar isletas de células corticales en el seno de la médula.

La substancia medular de la adrenal, contenta color pardo en el animal vivo y es extraordinariamente blanda. Consta de células dispuestas en conglomerados o en cordones uni

con entre sí a modo de red. Las mallas de esta red están ocupadas por vasos sanguíneos muy numerosos y de gran calibre, a cuyo alrededor se alinean a menudo las células medulares como en torno a un conducto glandular.

Las células medulares son elementos cilíndricos o irregularmente poliédricos de 20 a 30 μ de diámetro, con núcleo pobre en cromatina y retículo protoplasmático de amplias mallas. En el protoplasma hay diminutos gránulos que ostentan, los siguientes caracteres típicos: poseen una gran afinidad por los colorantes básicos, se tiñen en verde con las sales férricas (Vulpian) y adquieren un tono pardo rojizo intenso en las soluciones de sales de cromo (Henle). A causa de esta última propiedad se las ha designado con el nombre de"células cromafinas" (Kohn) o "feocromas" (Poll).

Estas células cromafinas son elementos epiteloides que no existen solamente en la adrenal, sino también en todo el sistema de paraganglios esparcidos a lo largo del simpático. La substancia cromafin representa una fase de la formación de la substancia activa de las adrenales, conocida con el nombre de Adrenalina. Cuando la célula está, por decirlo así, saturada en materia de secreción, esta se difunde en forma líquida y pasa a la sangre a través de las paredes de los capilares; entonces desaparece la reacción crómica en el protoplasma celular y en los gránulos y puede ser demostrada en los capilares la presencia de la substancia segregada, por su coloración pardo amarillenta. En la médula de algunos animales se han encontrado cavidades limitadas por células epiteliales dispuestas en empalizada, que contienen coágulos y células en vías de destrucción; la pared de estas cavidades no está tapizada de endotelio.

En la médula y todavía en mayor grado en la - -

substancia cortical se encuentran mitosis, sobre todo en el pasaje de la zona fasciculer, a la glomerular, circunstancia que hace pensar que en la adrenal sucumben constantemente células que son substituídas por otras generadas por división mitótica. El aparato interno de Golgi, está considerablemente más desarrollado en las células medulares que en las de la substancia cortical. Además de las células cromafínicas, la substancia medular contiene numerosas células nerviosas y vasos (Szymonowicz y Krause, 1935).

Histología de la corteza en relación con la edad.

La estructura histológica de la corteza adrenal, difiere en los distintos períodos de desarrollo. El mayor tamaño de las adrenales del recien nacido se debe a una intensa hiperplasia de la zona reticular, cuyas zonas contienen abundantes gránulos de substancia fucsinófila. La reducción de tamaño de las adrenales después del nacimiento se debe a la involución de la hiperplasia de la zona reticular del feto, tras la cual la cortiza, adquiere las características histológicas del individuo adulto. La zona fucsinófila fetal ha sido comparada a la zona X del retón y otros roedores.

En la senectud existe una ligera atrofia cortical, acompañada casi siempre de hiperplasia medular. Las células de la fasciculer presentan abundantes vacuolas lipoideas y en las de la reticular se observa un aumento de los gránulos pigmentarios. Las células cromafines son de mayor tamaño y sus inclusiones citoplasmáticas se tiñen más intensamente con el bicromato de potasio (Benedel, 1953).

Histología de la corteza en relación con el sexo.

Se han descripto diversas formaciones tisulares corticales, que presentan oscilaciones y cambios en relación —

con estados distintos de la evolución sexual (Botella Llusia, 1951). Estas zonas son la "zona x" de Deanesly y Howard, la - "zona andrógena" de Grollman y la "zona fuchsinófila" de Vimeo.

La zona x: según Deanesly y Howard se ha descripto en la rata blanca como una capa celular situada entre la corteza y la médula y que parece ser una dependencia de la zona reticular de aquella. Se desarrolla durante la fase embrionaria y alcanza su apogeo en el momento del nacimiento, atrofiándose después y manteniéndose atrofiada toda la vida del animal. Pero si la rata es castrada dicha zona reaparece, siendo siempre mas ostensible en el macho que en la hembra. Si se inyecta testosterona a animales castrados con esta zona bien desarrollada, se - observa una desaparición de la zona x (Deanesly, 1938 y Howard, 1940). Este fenómeno de desaparición con la hormona masculina, demuestra el caracter sexual de este tejido. Esta capa no es de mostrable en los demás roedores de laboratorio.

La zona andrógena la describió Grollman en 1936, en los fetos humanos de sexo masculino. Es una capa diferenciada entre la médula y la corteza, cuyo desarrollo máximo se alcanza en el cuarto mes. Mas tarde se atrofia y desaparece completamente después del nacimiento. Al gran desarrollo embrionario de esta capa, es debida la talla extraordinaria de las adrenales - del feto. Según Grollman esta capa tendrá relación con la diferenciación sexual en el sentido masculino y existiría solamente en los fetos de este sexo.

Una proliferación retardada de restos de esta - formación que había permanecido en estado embrionario, sería la formadora de las hiperplasias y los adenomas corticales responsables del sindrome adrono-genital. Los hipernefromas dotados - de acción virilizante, tendrían también esta histogenesis.

La zona fuchsinófila de Vines: Vines (1933), - sostiene que unas células que se colorean intensamente con la - fuchsina, situadas en la zona cortical, generalmente cerca de - la medular, pero que se pueden extender a toda la corteza, son las únicas productoras de hormonas genitales. Se funda para e llo en la constancia con que se encuentra estas células en todos los casos por él examinados con síndrome viriloide por hiperfunción o tumor cortical. A mayor número de células fuchsinó filas correspondería mayor producción de 17-cetoesteroides y - por lo tanto serían responsables del síndrome adreno genital. Sin embargo y según Usandizaga (1951) no hay unanimidad en que las células fuchsinófilas se presenten en todos los casos que - clínicamente se acompañen de síntomas viriloides, ni tampoco en que numéricamente sean proporcionales a la intensidad del síndrome viriloide, además se ha podido demostrar su presencia en los adultos sin virilización. Finalmente si se han encontrado en otras células del organismo a las que no se puede asignar el caracter androgénico, no puede aceptarse fácilmente el criterio de Vines.

Botella Llusia (1951) dice que no sabemos aun si la zona x, la zona endrógena y el tejido fuchsinófilo son - una misma cosa o si tienen un origen y una significación diferente. Por investigaciones realizadas con Cono Monasterio - - - (1948-1949) en adrenales humanas y de animales llegan a la conclusión de "que la zona de Crolinen y la de Vines son idénti- - cas, que dicha zona es de caracter bisexual, que aparece en los fetos tanto masculinos como femeninos, con lo cual viene a resultar totalmente inadecuado el nombre de "zona endrógena" que Crolinen le diera. Es evidente sin embargo que dicha zona es - más constante y más acentuada en los fetos masculinos, por lo -

que insistiendo en su caracter hiosexual, debemos reconocer que tiene un sentido de predominio virilizante.

Zonza y Howard (1930), investigan los grupos carbonilos lipoidicos en la zona x de la adrenal de ratón y la zona reticular de la adrenal del feto humano, encontrando que no son análogas.

Lo cierto y evidente es que la corteza de las adrenales tiene un verdadero rol como glándula de secreción sexual, tanto en lo que se refiere a los andrógenos (17-cetoesteroides neutros), a los estrógenos y a la progesterona.

Anatomía e Histología Comparadas:

En la mayor parte de los animales, se encuentran formaciones histológicas, con las mismas caracteristicas que el tejido medular o cortical de la especie humana. A las primeras se las denomina "cuerpos cromafines", mientras que los homólogos de la cortical, reciben el nombre de "cuerpos interrenales".

Los ciclóstomos, son los animales mas inferiores dotados de tejido interrenal y de tejido cromafin. Uno y otro están dispuestos formando pequeños nódulos independientes y aislados entre sí, sin relación alguna entre ellos. En los peces la disposición del tejido cromafin y del tejido interrenal es análoga. En los anfibios, reptiles y aves, el tejido cromafin y el tejido interrenal están unidos formando dos órganos aislados de significación análoga a las adrenales de los mamíferos. No existe sin embargo, una corteza y una médula verdaderas. El tejido cromafin se dispone formando pequeños grupos-celulares sumergidos en el seno del tejido interrenal.

En la mayor parte de los mamíferos, las adrenales están constituídas por dos formaciones esféricas u ovoides,

situadas en íntima relación de vecindad con el polo superior de ambos riñones y los grandes troncos vasculares del abdomen. En el puerco espín, las adrenales tienen una forma cilíndrica y alargada; en los simios antropoides son aplanadas y triangulares. La superficie es lisa, en los animales de pequeño tamaño y rugosa en el hombre, en los monos y en los grandes animales domésticos.

Según Hartman y Brownell (1949), es peculiar - por ejemplo que la corteza adrenal de la zorra australiana, carezca de zona glomerular. La corteza consiste en una banda de - aspecto claro que rodea la médula. De acuerdo con Bourne hay una zona externa (alfa) conteniendo lípidos y una zona interna (beta) prácticamente libre de lípidos. En la hembra la zona "beta" se hipertrofia en un contacto y se interna dentro de la médula, convirtiéndose en zona (delta).

En la oveja, hay una espesa cápsula de tejido conectivo, tejido que se extiende a través de la glándula. Las células glomerulares son en gran parte del largo de la corteza, - las otras células especialmente las de la zona fascicular, son muy pequeñas. En la zona reticular pueden encontrarse islotes - de células medulares. En ciertas especies de ratones, los núcleos de las células de la zona reticular están más intensamente teñidos que los núcleos de las células de las otras zonas. El citoplasma de las células de la zona glomerular, contiene grandes - vacuolas de un lado de los núcleos que ocupan una posición central. Estas vacuolas están probablemente llenas de lípidos en - el animal vivo.

La ardilla gris posee una densa y apretada capa glomerular y una tenue capa fascicular, constituída de células alargadas. Los núcleos poseen tres o más nucleolos.

La zona glomerular está pobremente desarrollada en la rata.

En el puerco espín, la zona glomerular, poseo - - grupos de células entremezcladas con tejido conectivo. La zona reticular está constituída por un compacto grupo de células agrupadas desordenadamente. Las células de la médula son alargadas y débilmente teñidas.

Rosf (1935) identifica, cuatro zonas en la corteza adrenal del conejo. La interna, en contacto con la médula presenta un resto de la corteza fetal, similar a la zona X del ratón. Las otras tres zonas, tienen una estructura similar a las de los otros mamíferos. Torgerson (1940) hace un cuidadoso estudio de la adrenal del conejo. Encuentra dos tipos de células corticales: células negras libres de colesterol y células claras conteniendo colesterol, pudiéndose observar numerosas formas de transición. Este autor observa variaciones en la histoquímica según la estación del año. Así observa en el verano abundantes - - substancias con doble refracción, especialmente colesterol. En el invierno por el contrario estas substancias desaparecen.

A lo largo de la corteza hay células así descritas llamadas "células colemorfas ".

Las substancias de doble refracción encontradas en las células claras, están presentes algunas veces en las células adiposas, lo que podría interpretarse como un proceso de degeneración de las células claras. La castración conduce a un incremento de las células claras, mientras que la inyección de estrona, es seguida por el aumento de las células obscuras. Es sugestivo que la corteza adrenal, comparse la ausencia de hormonas sexuales con el incremento del número de células claras.

En el murciélago existe una muy pequeña zona reticular o cerca de ella. Algo análogo ocurre en el mono.

También es significativo que estas/zonas estén aumentadas en los cuerpos corticales accesorios.

Las diferencias en la estructura de las células en las distintas zonas de la corteza adrenal, pueden reflejar la actividad de la región.

La zona reticular está compuesta de células alargadas en algunos especies y están abastecidas por abundante irrigación sanguínea. Esta zona es considerada, como una zona de degeneración o desgaste celular. De acuerdo con Crepax, la zona glomerular y particularmente la porción externa de la zona fasicular presenta los centros de regeneración, donde las nuevas células se están formando, moviéndose hacia el interior, para reemplazar las células de desgaste de la reticular.

Nelson y Mosser (1941), mediante el azul trigan, observan que las células corticales se mueven hacia el interior, hasta la médula. Aclaran que esto no niega el aumento celular -- producido por mitosis en la zona glomerular y fascicular. A partir de estos resultados en la rata, estos autores estiman que el promedio de tiempo requerido para el movimiento de las células - desde la cápsula a las diferentes zonas es: 6 días hasta la zona glomerular, 12 días hasta el comienzo de la zona fascicular y 20 a 30 días a la zona reticular. Este movimiento puede probablemente ser más rápido en respuesta a un "stress".

Selye y Foster (1943) encuentran en la rata, que no hay indicación a cerca de la migración celular centrípeta en la corteza, seguida a la inyección subcutánea de azul tripan. La aparición de este tinte en las gotitas formadas en las estructuras internas de las adrenales, fué achacada a la actividad macrófaga de las células parecidas a los fibroblastos.

Carter (1946) tampoco pudo confirmar la observa

...ICA Y FARMACIA ... BLIOTECA

...ión de Salmon y Evenor de que el azul tripan, tenía las célu-
las migratorias de la cápsula a la zona glomerular. De acuerdo a sus descubrimientos las células de la cápsula, zona glomerular y la parte externa de la zona fascicular reaccionarían como una -- unidad funcional, segregando el tinte en la forma de pequeños y - finos gránulos. Habría proliferación de las células del fondo -- capsular (zona pre-glomerular) para surtir de nuevas células a - la zona glomerular. Además la presencia de figuras mitósicas en la zona reticular, muestra que esta zona no está enteramente - - constituída de células degeneradas o envejecidas.

De acuerdo a Ivanov (1932), las mitosis principalmente se encuentran en la periferia de la adrenal de los mamíferos y las células migratorias hacia el centro. La localización sería de acuerdo al grado de actividad.

Los procesos de secreción son más frecuentes en las zonas medias. La zona reticular es un área de degeneración. En la zona reticular es donde se lleva a cabo la destrucción celular, las células para ese entonces, han perdido gran parte de - su contenido lipógeno que según Mulon, se ha transformado en el - pigmento característico de esta zona. Los residuos celulares - - caen en los senos sanguíneos y son eliminados por la circulación venosa. El aparato de Golgi muestra que toma parte en la formación de gránulos secretores. En las células activas, el número de condriosomas decrece. Los cuerpos cromófilos aparecen durante - la actividad final, que conduce a la degeneración.

Shatchard (1943), no encuentra evidencia de degeneración celular, experimentando en gran número de cobayos de -- seis meses de edad o menos. En los animales de un año de edad, se observa la atrofia de las células corticales próximas a la médula.

Greenwald y Ronikov (1944) dicen: "El estudio de las células de reemplazo en la cápsula adrenal de varias especies de mamíferos, ha mostrado la gran diferencia existente, no solo entre especies, sino también entre varios períodos de la vida de una especie."

Según Hetton y Evemon (1943), las nuevas formaciones de tejido cortical en la cápsula, son más extensas en los gatos pequeños que en los adultos.

Greenwald y Ronikov, estudian la distribución de las nuevas diferenciaciones del tejido cortical hacia la cápsula en los mamíferos, llegando a la conclusión de que hay dos acontecimientos por medio de los cuales, el tejido se liga a la corteza. 1) Unión cabo a cabo de las nuevas cuerdas formadas con las de la corteza (descrito por Wasser y otros). 2) Adhesión de una nueva capa completa, sobre una extensa área de la superficie adrenal. La producción de uno u otro de estos procesos, influye sobre la aparición externa de las cuerdas glomerulares en las distintas especies y el importe de los nuevos tejidos formados. Ambos tipos pueden producirse en las mismas especies, como ocurre en el hombre. Estos autores, proponen el siguiente concepto para explicar el mecanismo de reemplazo de las células funcionantes en la corteza adrenal: cuando hay una moderada demanda de las células corticales funcionantes, se producen mitosis en el borde superior de la zona fascicular. Si la demanda se acentúa, las células acumuladas en la zona glomerular, son movilizadas hacia abajo con o sin división. Esto es probablemente de gran importancia, en las circunstancias en que es necesario reemplazo y funcionamiento, ya que las células glomerulares son útiles sin división celular.

En la rata hay dos zonas de secreción de la cor-

tora adrenal; una la zona glomerular, que no está controlada por la pituitaria y la otra que está bajo su influencia; teniendo en cuenta que la hipofisectomía no altera la concentración de sodio plasmático, es sugestivo que la zona externa, produzca el factor sodio. Las observaciones de que la desoxicorticosterona (DCA), - causa la retención de sodio y que éllo provoca la atrofia de la zona glomerular, se cita como evidencia de que esta zona produce una hormona vinculada a la retención del sodio (Greep y Deane; - Deane y Greep). La DCA también causa la atrofia de la glomerular y la pérdida de lípidos en las ratas hipofisectomizadas.

Blackman (1946) hace un estudio de varios casos mostrando síntomas de síndrome adrenogenital y un caso de precocidad sexual, con síntomas de enfermedad de Addison, concluyendo que la zona reticular de la corteza adrenal está vinculada al metabolismo de las hormonas masculinas, mientras que las zonas externas, están vinculadas a la regulación de electrolitos.

Great (1944) ha encontrado que las células con semejanza morfológica a las de la cortesa adrenal, desarrollan - los ovarios de la ardilla de campo joven y madura, adrenalectomizada.

Estas células se levantan por metaplasias de células parecidas a fibroblastos y células indiferenciadas de los ovarios. Eventualmente desarrollan tejido suficiente, para mantener el animal en estado normal.

El ciclovital de las células en la adrenal, - puede ser acortado por venenos como el cloroformo o la toxina - diftérica. El ciclo puede ser alargado en la vejez. Aquí la degeneración de las células es mas numerosa y las mitosis son menos frecuentes.

En la inanición, la división celular en la zona glomerular y fascicular cesa y la degeneración en la zona retic-

ler aumenta.

La destrucción celular y la reproducción pueden ser observadas en muchas diferentes especies y en diferentes edades. Ello parece ser un fenómeno general.

El teñido desigual de los dos tipos de células de la zona reticular, ha llevado a la designación de células claras y obscuras. Las primeras son de forma redondeada, mientras que las últimas poseen contornos excavados, por la compresión de las próximas.

Las mitocondrias son muy abundantes en la corteza adrenal del cobayo. El citoplasma de la glomerular, está casi repleto de mitocondrias que son filamentosas, en forma semejante a varillas granulares. En la fascicular hay células en forma alargada y esféricas. En la reticular las varillas son otra vez las mas generalmente presentes.

Las interrelaciones entre los lípidos, mitocondrias y pigmentos pueden ser determinadas solamente por el uso de técnicas comparables. Un estudio demuestra que estas inclusiones citoplasmáticas son elementos distintos y no transformaciones de mitocondrias a lípidos y pigmentos (Hoerr), como Mulon creía.

No hay acuerdo en lo referente a la terminología de las capas de la corteza.

Como vimos anteriormente, Coormaghtigh divide a la corteza adrenal humana en una zona esponjosa interna y exterma, que alcanza dos tercios de la corteza y dos zonas delgadas en el interior, que las llama la 2a. y 3a. zona. La 3a. zona constituye alrededor de un octavo de la corteza y linda próxima a la médula. La 2a. zona es más espesa y yace entre las otras dos. La zona esponjosa, que es parte de la zona fascicular de Arnold, contiene células características en filas paralelas con el

toplasma esponjoso. Ellas son pobres en mitocondrias y material sidorófilo. Rumados a los espongiocitos, hay células alongadas en la zona fascicular, que contienen protoplasma que es intensamente sidorófilo y eosinófilo. La 2a. zona está compuesta por células poliédricas turgentes con corco, su protoplasma es finamente granulado y no contiene gotas de grasa. La 3a. zona consiste en cordones de células formando una red, estas células contienen inclusiones teñidas por el ácido ósmico, juntas con las mitocondrias, en forma de pequeños ovillos empaquetados y cerrados juntos.

Bloxner y Grollman (1939) hacen aportes en la determinación del estado de actividad de la cortesa y para ello estudian la reacción histológica, de la adrenal de la rata con ácido ósmico. Comprueban que el aumento de actividad va asociado con un aumento de la reducción del ácido ósmico, mientras que disminución de la actividad va asociada con un descenso de la reducción. La exposición de la rata a 10° C por un corto tiempo (4 horas) muestra un pronunciado aumento en la reducción de las substancias en la periferia y en las zonas externas de la fascicular. En períodos más grandes (un día) se observan marcadas pérdidas de substancias reductoras, en todas las zonas. El calor produce un efecto de aumento uniforme. Las ratas mantenidas de 37 a 40° C por 3 a 5 horas, muestran un descenso casi completo de las substancias reductoras de todas las regiones excepto de la zona periférica y de la porción interior de la zona fascicular externa.

Bennet como vimos anteriormente emplea tanto histoquímicos, para mostrar la distribución de la actividad esteroidea. Aunque Gomori (1942) expresa que esto no es específico, diciendo que en el gato adulto, las substancias que se comportan

como esteroides activos son unicamente confinados a una zona de células en la fascicular externa. Estas células contienen extensas vacuolas de lípidos osmiófilos. Hay evidencia que los esteroides están contenidos en estas vacuolas, pero no en los gránulos lipoides osmiófilos en la región interna de la "zona secretora". Por consiguiente las substancias activas no están necesariamente asociadas con los lípidos osmiófilos. Dennet dividía las células corticales en el gato macho adulto en "prosecretoras", - "secretoras", "postsecretoras" y "zonas de declinación".

Rogers y Williams hacen un estudio de la corteza adrenal en los humanos normales y en los afectados por infección, exposición a un trauma, irradiación por rayos X o anoxia. Observan la intensidad del teñido con fenil hidrazina o Sudan IV, también la birrefringencia o fluorescencia. No hay prueba - que eso indique el resultado o distribución de la actividad hormonal.

En algunas especies han sido observados cambios de acuerdo a las estaciones. Kayser encuentra que en el otoño la corteza adrenal de los animales invernantes, desarrolla un engrosamiento en la zona reticular. Este persiste hasta la primavera. - Bernstein, nota en la rata blanca que las substancias sudanófilas de corteza adrenal son bajas en el invierno y altas en el verano.

El efecto de la edad sobre la adrenal ha sido - bien estudiado en el cobayo por Blumenthal quien observa una disminución gradual del número de mitosis, con el aumento de la edad. La disminución grande ocurre en la transición de la vida embrionaria al nacimiento. El monto de la actividad mitósica es - más elevado en los hembras que en los machos, en todos estos grupos de edades. El estroma de las adrenales cambia con el aumento de la edad, a un tejido fibrilar flojo o a un tejido fibroso hia-

lino.

Según Cañadel (1933), a medida que se asciende en la escala zoológica, aumenta el número de especies animales cuyas glándulas adrenales están representadas por un órgano par y simétrico. En los vertebrados inferiores el tejido intorrenal y el tejido cromafín forman nódulos aislados, en número indefinido, dispersos por todo su organismo. En las especies animales superiores, los homólogos de la corteza y de la médula tienden a la coalescencia formando un órgano par y simétrico, en el que el tejido cromafín se encuentra formando núcleos incluídos en la masa de células intorrenales (reptiles, aves). Unicamente en los mamíferos existe una verdadera corteza de disposición periférica rodeando el tejido cromafín.

Recordando la disposición normal de los vertebrados inferiores se encuentran en las aves y con menor frecuencia en los mamíferos, núcleos accesorios de tejido intorrenal, de tejido cromafín o mixtos. En las ratas se encuentra un 8 % de núcleos intorrenales o mixtos, casi siempre visibles a simple vista y se hipertrofian después de la adrenalectomía. En el conejo se observan muy raras veces y en el perro resultan excepcionales. Los núcleos formados exclusivamente por tejido cromafín (para ganglios) se encuentran en todas las especies animales, incluyendo al hombre.

La disposición de las células corticales en tres zonas distintas es común al hombre y a la mayor parte de los mamíferos.

La cortical del ratón en períodos de crecimiento, se caracteriza por la notable hiperplasia de la zona reticular, la cual ha recibido el nombre de zona X. Las células de la misma son de pequeño tamaño y de tipo basófilo. La zona X se —

atrofia cuando los ratones alcanzan la madurez sexual. La castración evita la involución de la zona X y da lugar a un aumento de su tamaño mientras que la administración de hormonas sexuales y la gestación aceleran su atrofia. Se supone que esta zona está relacionando, con la producción de hormonas androgénicas.

Las glándulas de otros mamíferos, poseen peculiaridades histológicas notables. La cortical del Opossum, carece de zona glomerular. En el cordero existe una cápsula fibrosa densa; las células de la glomerular son hipertróficas y las de la fascicular son notablemente pequeñas. En el oso, las células de la glomerular, son de gran tamaño y poseen abundantes inclusiones lipídicas; las de la reticular son pequeñas, están agrupadas densamente y sus núcleos se tiñen con notable intensidad. En una especie de murciélagos (Tadarida cynocephala) falta la zona reticular y los cordones de la fascicular están en contacto directo con las células medulares.

En el conejo y en la rata se han identificado cuatro zonas corticales; la más interna representa un remanente de la cortesa fetal y es homóloga de la zona X del ratón, las otras tres capas son idénticas a la de los otros mamíferos.

Embriología.-

La cortesa y la médula adrenales tienen un origen embriológico distinto. La cortesa se desarrolla a partir del mesodermo celómico. La médula se forma de la cresta neural y tiene por tanto un origen ectodérmico.

Hacia el final de la 4a. semana de la vida intrauterina, surgen una serie de proliferaciones celulares en el mesotelio de la cavidad celómica, entre los cabosos embrionarios de las glándulas urinarias y la raiz del mesentorio. Estas proliferaciones celulares darán origen a la cortical y se designan —

con el nombre de botones intorrenales. En una segunda fase del - desarrollo embrionario, los botones intorrenales inicialmente unidos al epitelio peritoneal, se destacan del mismo y se internan en la cavidad celómica (embriones de 10 mm.). Simultáneamente tiene lugar un triple proceso de reordenación celular, de hiperplasia y de atrofia, cuyo resultado final es la unión de varios botones intorrenales en un órgano ,or y simétrico, el crecimiento ulterior de los mismos y la involución de los restantes - esbozos corticales. La atrofia incompleta de estos últimos, origina la presencia de núcleos accesorios de tejido intorrenal en el individuo completamente desarrollado. Las primeras inclusiones lipoideas, comienzan a aparecer cuando el nuevo ser alcanza una longitud de 2,5 a 3 cm.

Según Honan (1929), durante los primeros meses del desarrollo, existe únicamente corteza fetal. Las células de la misma, poseen abundantes granulaciones fucsinófilas y han sido comparadas a las de la zona X de los roedores. Hacia el séptimo mes comienza a aparecer la cortical adulta y simultáneamente tiene lugar la progresiva involución de las células fucsinófilas. La persistencia de granulaciones fucsinófilas en la reticular, se asocia frecuentemente a cierto hermafroditismo femenino.

Da Costa (1951), ha demostrado que en primer lugar se forma la zona reticular o fetal, después aparece la glomerular y finalmente se desarrolla la fascicular.

Kolyncke (1956), investiga el desarrollo de la glándula adrenal en cerdos humanos. La investigación se realizó - en 75 embriones fetales, tomando cada mes de vida intrauterina.

El mesodermo primordial comienza a penetrar en el mesénquima alrededor de la 4a. semana de vida embrionaria y - alrededor de la 5a. semana se diferencia en dos porciones, la --

"contigónica" y la "provisional". La primer zona que aparece en la contigónica es la glomerular (entre el 4° y 5° mes) y hacia el fin de la vida fetal (8° mes) comienza a formarse la zona fasciculer, la cual en el 9° mes ya fácilmente visible. La mayor parte de la glándula adrenal según Bolyneka, estaría constituído por la parte provisional y aquí estarían radicados los más intensos procesos de formación. Comenzando el 4° mes aparecen en esta zona, células gigantes. Desde el 6° mes, aparecen las células brillantes y obscuras y alrededor del 7° mes, se observan en estas células vacuolas y gránulos. También se observó un antagonismo entre la zona contigónica y la provisional ya que la declinación en el desarrollo de una es acompañado de la hipertrofia de la otra o viceversa. Ello hace suponer que existe una correlación entre las gonadotropinas coriónicas y las hormonas de la glándula pituitaria y un efecto sobre la existencia de la zona provisional ya que, cuando la gonadotropina cesa de ejercer sus efectos después del parto, la zona provisional desaparece. El autor supone que la zona provisional es la única parte activa de la glándula fetal.

El ectodermo primordial participaría en la formación de aglomeraciones de clapatogonios, introduciéndose en el mesodermo primordial en el 3er. mes, esa penetración se produciría probablemente por medio de vasos sanguíneos y se localizaría en la parte media de la zona provisional, bajo forma de esferas compactas que gradualmente se rarifican en su interior. Esto ocurre en el 5° y 6° mes. En el 7° mes el ectodermo primordial en forma de bastones cromáfilos penetra hacia los vasos entre las células, sobre la periferia de la zona provisional y queda en la vecindad de los grandes vasos.

La parte medular de la glándula adrenal, no se

forma definitivamente hasta el final de la vida fetal. Según el autor durante toda la vida fetal, no ocurrirían procesos de necrosis en la parte ectodérmica de la glándula adrenal.

Histoquímica de la Corteza Adrenal

Si realizáramos un análisis químico del tejido cortical, se podría demostrar la existencia de agua, colesterina, nucleoproteínas, substancias lipoideas y pigmentos, sales minerales, vitaminas y fermentos como la coenzima A (Malamtren y - - - Glick, 1954) y la β glucuronidasa (Hayyara y Glick, 1953). Estos elementos son comunes a la mayoría de los órganos. También existen y esto es lo que más nos interesa por la índole del presente trabajo productos de actividad hormonal.

Los lipoides que contiene la corteza adrenal están representados en primer término por el colesterol y sus ésteres y en segundo término por grasas neutras y fosfolípidos.

Según Virchow, en gran parte el color amarillo de la corteza se debería a su riqueza en lípidos y lipocromos.

Las técnicas histoquímicas permiten revelar que los lipoides se encuentran formando vacuolas e inclusiones en el citoplasma de las células de la capa fasciculer (espongiocitos).

El contenido en colesterol libre y esterificado de la corteza adrenal, varía de acuerdo con la cantidad que ingresa en la alimentación pudiendo aumentar considerablemente, cuando la dieta contiene abundantes cantidades o disminuir en forma intensa durante la inedia crónica.

-Se han observado también variaciones en relación con el estado funcional de las adrenales. Whitehead (1931) observa que la extirpación de una adrenal conduce a la hipertrofia de su congénere y a un aumento absoluto y relativo de sus depósitos de lípidos. Por otro lado los estímulos agresivos (frío, trauma-

tismo, subtancias tóxicas, etc.) produce una duplicación del colesterol y otros lípidos corticales; pero al su acción se repite y el organismo logra adquirir un estado de resistencia frente a aquellos, la corteza se hipertrofia y con ello recuperacon las vacuolas lipoideas.

La significación fisiológica de los lipoides corticales, todavía se discute. Parte de ellos deben considerarse como componentes esenciales de sus células. El tenor de los mismos permanece constante cualquiera sea las condiciones de actividad del órgano y la composición de la dieta, no dando los métodos histoquímicos idea de su presencia. La mayor parte de ellos sin embargo se presentan en forma de inclusiones citoplasmáticas birrefringentes de aspecto vacuolar, claramente demostrables con las técnicas de tinción de las grasas.

Para algunos autores, las glándulas adrenales constituyen una especie de depósito central de colesterol y sus ésteres, para otros, estos órganos son los encargados de su formación. Los estudios de la histoquímica permiten demostrar que existe una estrecha relación entre las suberanales lipoideas y las hormonas de la corteza (Dumont) habiéndose sugerido que el colesterol es un precursor hormonal, o bien un vehículo que contribuye a mantener en solución los principios activos de la corteza.

Rogers y Williams (1947), demostran, por la intensidad del teñido, mediante el uso de azul de nil hidrazina o Sudan IV y también por la birrefringencia, que en la corteza adrenal humana hay una disminución de lípidos, como consecuencia de infecciones, radiaciones por rayos X, anemia y traumas. Los mismos autores en trabajo posterior (1949), determinan que el contenido en colesterol de las glándulas adrenales en personas normales,

establecido después de muertes violentas en de 5,3 a 0,2 g por cada 100 g de glándula, observ ndo que estos valores tienden a ser altos en las enfermedades cardiovasculares o renales y bajos en el hi,oradrenocorticalismo, debilitamiento crónico e infección. También comprueban que la excreción de esteroides adrenales es alta, durante el "stress" y el contenido de colesterol bajo. Pero que estos dos factores no siempre son correlativos.

Albert y col. (1947), Gumber (1949) y Roscott y Rundl (1949), llevan a cabo importantes contribuciones en la demostración histoquímica de los cetoesteroides en la corteza adrenal.

Creep y Leane (1949) en un trabajo donde estudian la citología y la citoquímica de la corteza adrenal, identifican a los cetoesteroides en secciones congeladas de corteza adrenal, usando para ello el colorante Sudan, la fenilhidracina y la semicarbazida, el reactivo de Schiff y el nitrato de plata amoniacal. Demuestran que los cetoesteroides son birrefringentes presentan fluorescencia y son solubles en acetona. En lo que respecta a su distribución en las distintas zonas de la corteza, observan que las gotitas de lípidos de la glomerular y la fascicular externa, dan respuestas positivas para los cetoesteroides, mientras que la fascicular interna y la reticular se tiñen solamente con el colorante Sudan, suponiendo los autores que son triglicéridos.

Gomori (1942), dice que el test histoquímico de Schmot para cetoesteroides en la corteza adrenal no es una reacción especifica, simplemente indica la presencia de substancias orgánicas que poseen una función aldehída o cetona . Según este autor las substancias orgánicas, no existirían en ningún modo los cetoesteroides presentes en grandes cantidades en la corteza adrenal.

La cantidad de agua que forma parte del tejido cortical está en razón inversa a su contenido lipoideo. El contenido hídrico de las adrenales humanas, puede variar desde 58 al 85 % de su peso. La menor proporción de agua, corresponde a la corteza, en la que por término medio se encuentra el 66 %, frente al 80 % que existe en el tejido medular. Otro componente que caracteriza el tejido cortical desde el punto de vista bioquímico es el azufre. No existe otro órgano salvo la piel y sus derivados córneos, donde se encuentre una proporción tan elevada en compuestos azufrados como la que existe en las adrenales. Una gran parte de este azufre, se encuentra en forma de glutation.

Leroy, Vollmer, Kocmer y Sponco (1931) observan que después de la administración de altas dosis de glutation en la rata y cobayo se observa disminución en el contenido del ácido ascórbico y colesterol adrenales.

El tejido cortical es especialmente rico en vitaminas y su estructura y funciones se modifican de modo notable, con dietas carenciales. Se encuentra en especial abundancia, caroteno (provitamina A) y ácido ascórbico (vitamina C). El caroteno contribuye a dar tonalidad amarillenta a la corteza adrenal, sin que el parecer su presencia, guarde relación con las funciones de la glándula. La vitamina C, fué aislada en forma cristalizada a partir de las adrenales por Szent Györgyi, demostrándose ulteriormente su presencia tanto en el tejido medular, como en el tejido de la corteza. La cantidad existente en esta última, disminuye en los estados de intensa hiperfunción (Meyers y Mayors).

El ácido ascórbico se encuentra en todas las células de la corteza y especialmente en las de la zona glomerular, precisamente en aquella zona de la corteza, en que las hor-

nan corticales alcanzan mayor concentración. Por otra parte Giroud (1940), ha comprobado que el contenido en hormonas corticales y en ácido ascórbico en la cortesa adrenal, marchan paralelas y así en el ascorbuto del cobayo, el ácido ascórbico disminuye en la corteza adrenal paralelamente con el contenido de hormonas corticales, pudiendo aplicarse en ese sentido la adinamia -- del ascorbuto, como consecutiva a un deficit cortical. En casos de enfermedad adrenal, la administración simultánea según Giroud de cortina y vitamina C, es altamente recomendable.

En general todo aumento de la actividad de la - glándula adrenal, va acompañado de una disminución de la concentración de ácido ascórbico.

Administrando hormona corticotropa (ACTH) en la rata y en el cobayo es posible hacer desaparecer casi totalmente el depósito de ácido ascórbico adrenal, como han comprobado Sayers y col.

Análogamente al ACTH, actúan las infecciones, intoxicaciones, coma insulínico y en general todos los estados - de choque (stress) (Sayers y Sayers, Selye).

Lazenstein y Zwemer, suponen que el ácido ascórbico es uno de los componentes de la molécula de las hormonas corticales, uniéndose con los esteroides corticales. Desde luego es un hecho bien comprobado, el aumento de la actividad de los - extractos y hormonas corticales, cuando se les añade ácido ascórbico. En general se ha observado que todo aumento en la actividad secretora de la corteza adrenal, va acompañado de un incremento en la concentración de ácido ascórbico en la sangre venosa, procedente de la glándula. En la actualidad la medida del - contenido de ácido ascórbico adrenal, es un indicio del grado de funcionamiento de esta glándula (Romo Aldama, 1951).

Rabinowics y Rotolmenangu (1950), estudiando los cambios que se producen en los 11-oxiesteroides por la ovitominoula C, en la corteza adrenal del cobayo, observan que cuando se deja de administrar ácido ascórbico, durante 30 días, se provoca una disminución de los 11-oxiesteroides a un cuarto de los valores normales.

Rosovic (1951), dice que la vitamina C, previene la hipertrofia de la glándula adrenal en animales en estado de "stress", desencadenado por la inyección de formol. El autor sugiere que la vitamina C en condiciones de medieno "stress" aunque previene la hipertrofia de las adrenales, no deprime la hipersecreción de corticoesteroides.

Además existen en las adrenales, lipoides, oldohidasas, protoidasas, citocromos y substancias pigmentarias. Los fermentos mencionados intervienen posiblemente en el metabolismo del tejido cortical y poseen la misma significación que las enzimas análogas presentes en otros tejidos. Las substancias pigmentarias son de dos tipos; los lipocromos y los pigmentos de tipo melánico y porfirínico. Los primeros derivan directamente de los que contienen los alimentos, mientras que los segundos son formados en el propio tejido adrenal.

Leblond y Gardner (1938), estudiando la distribución de la vitamina C en la glándula adrenal del ratón, usando la reacción con el nitrato de plata ácido, observan que en la médula no hay reacción; mientras que en la corteza, la reacción es positiva, excepto en la zona glomerular. En la zona X de la corteza de hembras vírgenes y de machos inmaduros se encontró una marcada reacción. En los machos viejos, castrados, esta reacción fué menos evidente. Los autores en base a esta reacción llegan a la conclusión de que la zona X es un verdadero tejido cortical, pro

bablemente al resultado de un hipo/desarrollo de la zona reticular.

Giroud y Santa (1940), demostraron que la corteza adrenal de los caballos, cerdos y ovejas es más rica en ácido ascórbico que la médula. En los hembras estos tejidos contienen más ácido ascórbico que los machos.

Giroud, Zollon y Martinet (1940), demuestran que en las adrenales de los caballos, la capa reticular y la fasciculer de la corteza, son ricas en hormonas corticales y en ácido ascórbico, mientras que la glomerular, contiene mucho menos. En otro trabajo los mismos autores demuestran que cuando los conejos son privados de vitamina C, las hormonas de la corteza adrenal disminuyen a niveles bajos en 15 a 20 días (1940). Posteriormente (1941), los mismos autores, pusieron en evidencia que el ácido ascórbico, es necesario para la secreción de la hormona cortical. Dicha secreción aumenta con el contenido de ácido ascórbico, deduciendo que el funcionamiento correcto de las células corticales, requiere niveles óptimos de vitaminización y que el aumento de trabajo puede provocar avitaminosis C, progresiva.

Long (1947) dice que con tal que la hipofisis esté intacta, cuando hay un aumento de la secreción adrenocortical se produce una disminución en el colesterol y ácido ascórbico del tejido cortical.

Dos Murula y Lo Blanc (1952) comprueban mediante técnicas histoquímicas, descenso de las substancias sudanófilas, en la corteza de las adrenales de ratas hipofisectomizadas, tratadas con ACTH y ascorbato de sodio.

Fuoi y Tilli (1954) verifican las variaciones que se experimentan en los 17-cetoesteroides y en el contenido de ácido ascórbico de la corteza adrenal del conejo sometido a -

la irradiación experimental. El trabajo fué realizado con 36 conejos, a los que se sometió a la exposición de los rayos X. En la mayoría de los casos, se observó una disminución de los cetoesteroides de la zona fasicular y reticular de los conejos sacrificados dos horas después de irradiados. En animales sacrificados después de las 24 horas, los hallazgos fueron normales. Los niveles de ácido ascórbico no mostraron variaciones perceptibles.

Tadokoro (1954) aplica técnicas histoquímicas, para comprobar los cambios en la histología de la corteza adrenal, en la rata en estado de hiper y de hipofunción, hace notar las dificultades en relacionar, los estados funcionales con los cambios histoquímicos.

Ferraris y Bellegiano (1955) observaron que la administración de vitamina C, en un grupo de diez mujeres normales, provocaba un aumento en la excreción de los 17-cetocosteroides urinarios en la mayoría de ellos. Aunque debe consignarse que en algunas se observó una ligera disminución.

- CAPITULO III -

FISIOLOGIA DE LAS GLANDULAS ADRENALES - ACTIVIDAD CORTICOADRENAL. SU RELACION CON LA HIPOFISIS

Cuando hacia la mitad de siglo pasado Thomas Addison, describió el cuadro clínico de la enfermedad que debía inmortalizar su nombre, no se limitó a atribuir esta afección a la destrucción progresiva de las glándulas adrenales, sino que insistió en el hecho de que la porción externa de estas glándulas, le parecía fisiológicamente más importante que la substancia medular. Esta reflexión basada en una intuición más que en una observación estrictamente científica, debía hallar solo recientemente su consagración definitiva al mismo tiempo que la glándula corticoadrenal, se ha elevado al primer puesto entre las glándulas de secreción interna.

Muy diferente era la situación a comienzos del siglo actual. El descubrimiento de la adrenalina, substancia de una intensa actividad farmacológica, capaz de revolucionar en el término de unos segundos el equilibrio circulatorio de los animales y del hombre, tenía que eclipsar de momento, la porción cortical, que algunos consideraban solo, como una envoltura inerte, cuya única finalidad era la de contener y proteger la valiosa adrenalina (Dickel, 1951).

La significación real de la corteza adrenal reción se afirmó a partir de 1925, bajo el impulso de los trabajos de Stewart (1929). Este autor habiendo perfeccionado una técnica de extirpación muy cuidadosa de las adrenales, demostró que la adrenalectomía bilateral, no provocaba de ninguna manera como se afirmaba hasta entonces, la muerte instantánea o rápida del animal experimental, sino que los perros sometidos a esta operación,

podían ser conservados con vida durante un período de 10 a 12 días, de esta manera fué posible estudiar con exactitud el comportamiento de los animales adrenalectomizados, comprobándose en particular que las encontradas de su metabolismo hidromineral se superponían enteramente a las observadas en el curso de la insuficiencia adrenal aguda de los addisonianos.

Un descubrimiento particularmente importante fué realizado en 1930, cuando Swingle y Pfiffner y simultáneamente Hartman y Brownell, consiguieron preparar un extracto cortical adrenal, desprovisto de todo vestigio de adrenalina. Estos autores demostraron, que mediante la administración diaria de una dosis adecuada de este extracto, era posible mantener con vida y en buena salud aparente por espacio de semanas y meses, gatos y perros sometidos a la adrenalectomía bilateral. Se vió que el mismo extracto inyectado a fuertes dosis a los addisonianos producía efectos en el sentido de mejorarlos en forma espectacular permitiéndoles por regla general volver a recuperar rápidamente su equilibrio metabólico, e incluso reanudar sus actividades durante un período prolongado.

El descubrimiento de Swingle y Pfiffner fué el punto de partida de una serie de investigaciones de orden bioquímico tendientes a escrutar la composición hormonal del extracto cortico adrenal total y muy especialmente a aislar de él sus componentes, purificándolos. Estas investigaciones emprendidas simultáneamente en los laboratorios de Winterstein en Nueva York, de Kendall en Rochester y de Reichstein en Zurich, acabaron por evidenciar en el término de algunos años, treinta elementos diferentes, con la estructura fundamental de los esteroides (Gebauer y Linke, 1951).

Se comprobó que entre los esteroides de la corticoadrenal, había una extraordinaria diferencia de actividad, -

pone a su mismo origen y a su estructura fundamentalmente idéntica. Varios de ellos demostraron ser fisiológicamente inertes, sin duda intermediarios en la biosíntesis de los principales esteroides de importancia fisiológica. Mientras que otros estaban dotados de propiedades distintas y poderosas que se manifestaban unas veces con sinergismo, otras veces con antagonismo.

Seis de entre ellos bien definidos en cuanto a su estructura y a sus efectos poseen una actividad cortical manifiesta y su administración es capaz de corregir total o parcialmente los diferentes síntomas de insuficiencia adrenal.

La estructura molecular de cuatro de ellos: la corticosterona, la 17-hidroxicorticosterona, la 11-dehidrocorticosterona y la 17-hidroxi-11 dehidrocorticosterona, se caracterizan por la presencia de un átomo de oxígeno ligado al átomo del C-11 ya sea formando un hidroxilo o un carbonilo, mientras que - los dos restantes de estos seis, están desprovistos de oxígeno a nivel de este átomo, por cuanto los esteroides no oxidados en C-11, no poseen mas que una acción insignificante sobre el metabolismo hidrocarbonado. Recientemente se ha aislado un corticoide muy vecino a la corticosterona de la que difiere por una función aldehido en lugar del grupo metilo sobre el carbono 13, se la ha denominado Electrocortina o Aldosterona y se considera que ningún esteroide natural conocido posee esta función aldehido. El - descubrimiento de la Aldosterona abre una nueva era en la bioquímica, fisiología y patología de la glándula adrenal. (De Gennes y Boltour, 1954).

Otros esteroides no mencionados, están practicamente desprovistos de toda actividad cortical, pero se distinguen por su acción sobre la esfera genital.

Según sus propiedades dominantes, los esteroides adrenales, se clasifican en tres grupos principales.

1.- Corticosteroides cuyo efecto dominante se manifiestan sobre el metabolismo de los electrolitos y el agua.

Entre las substancias de este tipo frecuentemente descriptas como Mineralocorticoesteroides, la que se conoce mejor es la Desoxi-corticosterona descubierta por Reichstein en 1937, y de cuya estructura química ya hicimos referencia en el Capítulo I. Este compuesto es capaz de corregir con la misma eficacia que el extracto cortico adrenal total de Swingle y Pfiffner, la mayoría de las perturbaciones consecutivas a la adrenalectomía bilateral. Es un hecho curioso que la desoxicorticosterona, no obstante su extraordinario poder terapéutico, exista solo en cantidades insignificantes en la corteza adrenal, donde Reichstein ha sido el único autor que lograra hallarla. Desde luego no es absolutamente seguro que la desoxicorticosterona desempeñe en condiciones fisiológicas, el papel que corresponde a la posición que ella se ha conquistado en terapéutica. Todo lleva a crrer que este compuesto es reemplazado en la adrenal fresca por diferentes productos de acción análoga todavía no identificados hasta ahora y que en su mayoría se hallarían en la"fracción amorfa" de la corteza. Según Reichstein (1941), los extractos amorfos de la corteza adrenal son más activos que los compuestos puros cristalinos, algo análogo asevera Lugones (1949) al expresar que es especialmente importante señalar que el extracto glandular amorfo de la corteza adrenal, es más activo que lqs diferentes hormonas cristalizadas actualmente conocidas.

Ingle (1951) dice que la gran actividad biológica de la "fracción amorfa" se debe a la acción sinérgica entre dos o más de los compuestos conocidos en una mezcla no cristalizada, considerando que la corteza adrenal segrega substancias fisiológicamente importantes que no han sido identificadas aún.

Administrados en fuertes dosis los esteroides —

del tipo de la desoxicorticosterona, provocan en el hombre, así como en el animal de experiencia, una importante retención de cloruro de sodio y agua, acompañada por eliminación urinaria exagerada de potasio.

La retención de cloruro de sodio y agua, se traduce por un aumento de peso, rápidamente seguido por edema, primeros signos del aumento de volumen del plasma sanguíneo y del líquido extracelular en general; luego se observa una tendencia a la hipertensión arterial; por último, manifestaciones más o menos graves de insuficiencia cardíaca congestiva. La retención de cloruro de sodio puede ser estudiada fácilmente por el análisis de orina. Ella repercute también en la composición del suero que es anormalmente pobre en sal. Se la explica aceptando una perturbación de la función tubular del riñón que determina una reabsorción exagerada de agua, de sodio y de cloro.

La pérdida de potasio, provoca cuando llega a ser suficientemente acentuada una debilidad muscular intensa, análoga a la que se observa en la parálisis facial periódica. Ella acarrea simultáneamente diferentes perturbaciones electrocardiográficas.

Estos diferentes trastornos metabólicos ya sean del metabolismo del agua o bien de los electrolitos constituyen precisamente la inversa de lo que se observa en la insuficiencia adrenal y más especialmente durante las crisis hipocloremicas de los addisonianos. Por consiguiente no es extraño que estas últimas sean corregidas fácilmente con la administración de una dosis elevada de desoxicorticosterona.

En el año 1946, Ingle demostró experimentalmente, en ratas pancreatectomizadas, la acción del acetato de 11-desoxicorticosterona (DOC) sobre la glucosuria, comprobando que disminuye, con la administración diaria de 1 a 2 mg de este com

puesto. El mismo autor, conjuntamente con Kildred (1940), también demuestran el efecto del extracto de corteza adrenal sobre el nitrógeno urinario de ratas adrenalectomizadas.

Se admite generalmente que los esteroides del grupo de la desoxicorticosterona son segregados por las células de la zona más externa.llamada glomerular de la corteza. La desoxicorticosterona es una hormona natural de la corteza adrenal (Verzar, 1943). Aunque según De Gennes y Lonchamps (1951), no ha sido encontrada en la corteza, sino en cantidades muy pequeñas.

Las gotitas de grasa birrefringentes de la zona glomerular de la cortoza, que se sabe dan las reacciones biológicas de los corticoesteroides desaparecen progresivamente bajo la influencia de la administración repetida de desoxicorticosterona, evidenciando que esta parción de la glándula, ha sido puesta en reposo completo (Dickel, 1951).

Heaney y col. (1951) expresan que los mineralocorticoides, producen retención de sodio y luego de cloro y agua, aumentando la excreción de potasio y substancias nitrogenadas.

El otro mineralo corticoide hasta hace poco conocido, es la 17-hidroxi-11-desoxicorticosterona o Δ^4-pregneno-17(β) 21-diol-3,20 diona que posee una acción debilitante mineralocorticoide.

Durante mucho tiempo se consideró a la desoxicorticosterona o a su acetato DOCA, como la hormona "del agua y la sal". Simpson, Tait, Weitstein, Reher, Von Eue y Reichstein (1953), utilizando el método de separación cromatográfica sobre papel, permitieron comprobar que la substancia responsable de la actividad mineralocorticoide no era la DOCA, sino un corticosteroide desconocido. Este corticosteroide ha sido por fin aislado y logrado en forma cristalina. Puede imaginarse las dificultades

técnicas de este trabajo si se considera que fué necesario tratar 600 kg de glándulas de buey para obtener 22 mg de electrocortina o Aldosterona, según se denomina a esta nueva hormona.

La actividad fisiológica de la Aldosterona es 20 veces superior a la desoxicorticosterona y aproximadamente 400 veces superior a la hidrocortisona o la cortisona (Kelly, 1956).

2.- Corticosteroides cuyo efecto dominante se manifiesta sobre el metabolismo de los hidratos de carbono y las proteínas.-

Las hormonas de este grupo, a las cuales se tiende a dar el nombre de glucocorticoides o glucocorticoesteroides están representadas sobre todo por la corticosterona, la 11-deshidrocorticosterona, la 17-hidroxi-11-deshidrocorticosterona (compuesto E de Kendall o cortisona) y la 17-hidroxcorticosterona o compuesto F de Kendall, mas abundante en la corteza adrenal que la cortisona y que juega en ella probablemente el principal papel.

La denominación de estas hormonas mediante letras, data de 1949, cuando Kendall lleva a cabo un importante trabajo sobre algunas hormonas de la corteza adrenal como los compuestos A, B, C, D, E y F. Dicho autor hace incapié en que el compuesto A, carece de valor en la enfermedad de Addison, mientras que el compuesto E, es de gran utilidad en el tratamiento de la artritis reumatoidea.

Mason (1940) hace referencia a la estructura químicas de las hormonas de la corteza adrenal, expresando que el acoplamiento, en la estructura fundamental de los esteroides, de una cadena como la $-COCH_2OH$, es esencial para la máxima actividad de todos los compuestos adrenales aislados. El reemplazo de este grupo por $-CO.CHO$, destruye la actividad en gran proporción y el reemplazo por la cadena $-CHOH-CH_2OH$, la destruye completa-

mente.

Fuchs y Reichstein (1943), observan que solamente seis de los principios de la corteza adrenal que contienen un carbonilo o un grupo hidroxilo en el C-11, ofrecen una significativa influencia sobre el metabolismo hidrocarbonado.

Swingle y Remington (1944), refiriéndose al rol de la corteza adrenal en los procesos fisiológicos, hacen incapié en que los corticosteroides con grupo hidroxilo o carbonilo en el C-11, son los más importantes en lo concerniente a la regulación electrolítica y el balance de los fluídos, actuando también en el metabolismo de las proteínas y de los glucidos.

Soffer (1945), hace referencia a la relación de la corteza adrenal con los electrolitos sodio y potasio, con el metabolismo de los carbohidratos y con la excreción de los 17- - cetoesteroides neutros urinarios.

Este segundo grupo de corticosteroides, ha recibido también la denominación de "11-oxi esteroides", otros autores los conocen como "corticoides", "corticosterono-like substances", "11-oxi-corticosteroid-like-substances", "cortin", "20-ketosteroids" y "formaldehydo-genic steroids" (Daughaday W.H. y - Jaffe H., Williams R.H., 1948).

Schneider (1950), describe el aislamiento de la 17-hidroxi-11 dehidrocosticosterona (Comp.E. de Kendall) a partir de la orina de hombres normales.

Kendall (1951) expresa,que aunque son muchos los procesos fisiológicos modificados por la cortisona, la forma en que se ejerce dicha influencia, son secretos que aun están encerrados, dentro de esta hormona de la corteza adrenal.

Coun, Louis y Fajans (1951), hacen referencia a que la 17-hidroxi-corticosterona o compuesto F, es una hormona - producida por la corteza adrenal normal humana.

Poland Edward (1954) al referirse a la 17-hidroxi-corticosterona, dice que es una hormona cristalina en la que los últimos trabajos experimentales, indican que ésta es el principal corticosteroide adrenal y que probablemente participe mas que otros en las reacciones fisiológicas, especialmente en aquellas que suponen esfuerzo. Comparaciones cuantitativas han demostrado consistentemente, que por peso, la hidrocortisona es decididamente mas potente. Por determinaciones basadas en el trabajo muscular, pruebas del glucógeno hepático, lisis de eosinófilos circulantes, cambios progresivos en algunas glándulas tubulosas o inhibición del crecimiento en embriones de pollo, se ha descubierto que su actividad es aproximadamente el doble que la de la cortisona.

Administrados en dosis suficientes, los esteroides del grupo de la cortisona, determinan un aumento de la glucemia, relacionado por una parte con una inhibición del consumo periférico de glucosa y por otra parte con un enriquecimiento de las reservas hepáticas de glucógeno. Su papel principal es el de estimular la gluconeogénesis es decir favorecer la transformación de las proteínas en hidratos de carbono. Esta transformación se efectúa a partir de los aminoácidos, que son convertidos en ácido pirúvico y en glucosa. Merced a esta propiedad, los extractos corticoadrenales, corrigen la hipoglucemia, que presentan al cabo de algunas horas de ayuno, los addisonianos y los animales adrenalectomizados, por el hecho de ser incapaces de utilizar normalmente sus fuentes hidrocarbonadas endógenas.

La acción de los esteroides glucoproteicos en el metabolismo de los prótidos, es esencialmente catabólica y se opone atenuante a la acción anabólica de la hormona hipofisaria de crecimiento. La cortisona en contraposición a esta última, inhibe el desarrollo ponderal de los animales jóvenes; estimula

la movilización de los ácidos aminados tisulares y activa su - - desaminación, lo que se traduce además de una acción excitante - de la gluconeogénesis, por un balance azoado negativo.

Los mismos esteroides provocan un aumento importante de la eliminación urinaria de ácido úrico. Esto se debe en parte a una modificación de la permeabilidad renal a esta substancia, en parte a una destrucción exagerada de los elementos celulares linfoides. La cortisona determina, en efecto, cuando es administrada en dosis adecuadas, una involución del timo, de los ganglios linfáticos y del bazo. Acción esta que se utiliza en la actualidad con la finalidad de tratar ciertas formas de leucemia y de enfermedad de Hodgkin. Simultáneamente a la lisis de tejido linfoide, se observa una disminución transitoria de los linfocitos de la sangre circulante, lo mismo que una eosinopenia particularmente característica. Esta última reacción se considera en la actualidad como el testigo más sensible de la liberación por la corticoadrenal de una cantidad apreciable de glucocorticoides.

Independientemente de la numeración de los eosinófilos se puede determinar "grosso modo", la cantidad de hormonas glucoproteicas, segregadas por las adrenales, estudiando la excreción urinaria de los 11-oxiesteroides, productos habituales de la eliminación de los glucoesteroides. Esta determinación puede efectuarse ya sea por el método biológico o bien por diferentes procedimientos químicos y colorimétricos.

Entre los métodos biológicos merece citarse la prueba de Venning y col. (1946) que se basa en la capacidad de - los corticoesteroides para depositar glucógeno en los hígados de ratones adrenalectomizados en ayunas. Otros son el de Forbes, - Griswold y Albright (1950) y el de Coste y col. (1952).

Los procedimientos químicos utilizados para medir los corticoesteroides urinarios, dependen principalmente de

las propiedades de la cadena lateral y primaria. Estos métodos no solamente incluyen los corticoesteroides activos, sino también las substancias inactivas y por lo tanto darán valores más altos que las pruebas biológicas. Teniendo en cuenta que la orina es el material que es una y que contiene gran variedad de substancias que serán medidas por este método, la especificidad de estas pruebas depende de la eficacia de los procedimientos de purificación y extracción.

Los métodos que se han empleado en medicina clínica incluyen los de Talbot, Saltzman, Dixon y Wolfe (1945); Ferrand y Sobel (1946) y el de estos dos últimos autores en colaboración con Venning (1946). Posiblemente el de mayor utilización ha sido el de Daughaday, Jaffe y Williams (1948). Estos métodos difieren unos de otros en la reacción química usada para medir los corticoesteroides y en el grado de purificación a que se someten el extracto urinario; en consecuencia los valores obtenidos en individuos normales, varían según el método empleado. Para el método de Daughaday y col., las cifras normales de 11-oxi-esteroides excretados en la orina de 24 horas es de 0,4 a 1,2 mg.

La cromatografía en papel es también una técnica valiosa para estudiar los esteroides adrenales (Burton, Zaffaroni y Kantmann, 1951).

La excreción de los 11-oxiesteroides está sometida en condiciones normales a importantes variaciones. Su tasa aumenta rápidamente pero en forma transitoria, bajo la acción del ejercicio físico y de los esfuerzos violentos. Según Rivoire, Rivoire y Rujol (1953), las glándulas adrenales secretarían una o varias hormonas indispensables para la contracción muscular y cuando estas hormonas faltan, sea por destrucción glandular, sea porque el consumo es superior a la producción (trabajo físico violento) aparece la sensación subjetiva de fatiga. Para verifi-

cor este Kipótesis han recurrido a los métodos más modernos y e-ficaces de exploración funcional de la adrenal como son los dosajes hormonales en la orina de 11-oxicetoesteroides, 17-hidroxicorticoesteroides y 17-cetoesteroides. Las experiencias se realizaron dosando las orinas recogidas cada tres horas en un período de 12 horas, interoalando un ejercicio físico de intensidad dada, antes de la sexta hora. De esta manera fué posible establecer un gran número de curvas de eliminación característicos de cada grupo. En individuos no entrenados, las curvas guardan gran similitud, cualquiera fuera el tipo de investigación realizada. Se constató eliminación más o menos rápida de las hormonas, que prontamente descienden a cero.

En los sujetos entrenados la curva resultó diferente, la caída de corticoides menos notable, más tardía y menos acentuada precedida de una fase de hiperexcreción cortical tanto más abundante cuanto más entrenado está el individuo.

Los autores analizan la naturaleza de este fenómeno llamado "entrenamiento", hasta ahora misterioso, al que consideran una reacción de adaptación o de defensa a la fatiga y a la insuficiencia adrenal que constituye su substrato funcional.

Todo parece indicar que el músculo en trabajo consume hormonas corticales sin que se pueda pensar con certeza cual es la hormona consumida, aunque una serie de indicios autoriza a pensar en que sería realmente esas los 17-cetoesteroides.

Los traumatismos más variados, las fracturas, las quemaduras, las intervenciones quirúrgicas, las toxi-infecciones, determinan también un aumento importante de la eliminación de los 11-oxiesteroides, prueba de su repercusión inmediata en el funcionamiento de la corteza adrenal.

Existe pues una analogía notable con la <u>Reacción de Alarma de Selye</u> tal como este autor la ha descripto, como res

cuesta no especifica a una multitud de factores agresivos de orden mecánico o físico-químico, que en la actualidad se engloban bajo la denominación genérica de "stress". Reacción que se caracteriza por una descarga masiva mas o menos rápida y duradera de 11-oxiesteroides. En la actualidad ha quedado claramente establecido que esta descarga hormonal que se observa en el ser humano y en el animal experimental se efectúa regularmente bajo la influencia de una hipersecreción momentánea de hormona hipofisaria adrenocorticotrópica (ACTH, o corticotropina) excitante fisiológico, el mas habitual de la corteza adrenal.

Además de su efecto en el metabolismo de los hidratos de carbono y de las proteínas, poseen los corticoesteroides del grupo de la cortisona una acción evidente sobre el metabolismo de las grasas. Esta acción particularmente marcada en el caso de la 11-dehidrocorticosterona (compuesto A de Kendall), -- sintetizado por Reichstein en 1944, se traduce en la leucha tratada con una dosis apropiada de este esteroide, por una tendencia marcada a la obesidad.

También la corticosterona según Canadel (1953), administrada a los ratones, aumenta su masa adiposa y puede dar origen a obesidad, interpretándose tal acción como efecto lipocorticoide.

Se sabe por otra parte que los glucocorticoesteroides facilitan la movilización de las grasas en dirección al hígado y que su presencia es indispensable para el desarrollo de una cetogénesis máxima. El papel de la corticoadrenal en el metabolismo de los lípidos es todavía mal conocido y no está demostrado que su influencia sea directa. Es posible en efecto que la mayoría de los trastornos del metabolismo de los lípidos sean secundarios a la alteración del metabolismo glucoproteico.

Modernamente se admite que los 17-hidroxicorti-

coides o 17-hidroxicorticoesteroides, que son qufalcamente los - 17-21-dihidroxi, 20-cetoesteroides, constituyen un índice adecuado de la actividad corticoadrenal, pues son la excreción del cortisol o compuesto F y sus metabolitos, que a su vez representan el 80% de la secreción de los glucocorticoides,corticoadrenales (Pi Suñer y Forcham, 1956).

Existen varios métodos tendientes a evaluar los 17-hidroxicorticoesteroides, la mayoría de ellos basados en la - reacción de Porter y Silber (1950).

Reddy, Jenkins y Thorn (1952); Reddy y col. - - (1956) y Nelson y Samuels (1952), incorporan a estas investigaciones dos nuevas técnicas de valoración de 17-hidroxiesteroides.

Testergaard (1953), usando la reacción de Porter y Silber, anteriormente citada, determina los 17-hidroxicorticoesteroides urinarios, comprobando que sus valores aumentaron con la administración de ACTH y cortisona y en el stress, disminuyendo en los enfermos de Addison.

Wallace, Christy y Jeller (1954), hacen determinaciones de 17-hidroxicorticoesteroides en plasma, encontrando - valores normales de 4 a 32 µ por ml de plasma.

Brown (1955) encuentra para sujetos normales cifras de 4 a 10 mg de 17-hidroxicorticoesteroides urinarios en 24 horas. En la insuficiencia adrenal los valores resultaron de 0 a 2.9 mg y en el hiperadrenocorticalismo se hallaron valores de 15 a 35 mg/24 horas.

3.- Corticoesteroides cuyo efecto dominante se manifiesta en la esfera sexual.

Un número bastante grande de los esteroides aislados de la corteza adrenal están dotados de propiedades androgénicas, como la Androsterona, la Androsteno 3,11-diol 17 ona y la Androstenodiona. Otros de acción lutelzante como la Progente-

rona y otras estrogénicas como la Allo-pregnanolona y Estrona (Santos Ruiz, 1951).

Recordando sus fórmulas, que vimos en el Capítulo I, es fácil darse cuenta del estrecho parentesco estructural de estos productos con las hormonas de actividad, estrictamente cortical.

Entre estos productos los mejor estudiados son los que desarrollan tanto en el animal como en el hombre un efecto análogo al de los andrógenos testiculares: masculinización, retención de nitrógeno, de fósforo, de potasio, de sodio y de cloro.

Reichstein (1936) fué el primero en aislar de la corteza adrenal un andrógeno al que llamó Adrenosterona.

Wintersteiner (1937) y Patterson y Greenwood (1938), aislaron de la orina de sujetos afectados de tumores corticoadrenales la Androsterona, que como el anterior es también un 17-cetoesteroide, es decir un andrógeno con una función cetona en el C-17. La Androsterona es el más típico de estos compuestos y también puede ser encontrada en la orina de sujetos normales, varones y hembras. Hamblen, Cuyler y Baptist (1941) la han hallado en el tejido cortical.

Burrows y col. (1937) y Callow y Crooke (1944) aislaron en la orina de sujetos con tumores corticales otro andrógeno del grupo de los 17-cetoesteroides, la Dehidroisoandrosterona, cuerpo que solo se encuentra en la orina de sujetos afectados de tumores o hiperplasias corticales, por lo que se supone que es una substancia exclusivamente formada en la corteza adrenal. También se ha podido separar de la orina de estos sujetos Androstendiona que es una diacetona dotada de propiedades androgénicas a la par que estrogénicas y que también es un 17-cetoesteroide, al que se llega por reducción de la dehidroisoandroste-

rana .ubo cebado.

En cambio la testosterona ,roducto ne edfico - de la secreción testicular y hormona andrógena por excelencia, no se encuentra en la corteza adrenal, ni se elimina por la orina de los sujetos con ,rocesos patológicos corticoadrenales. La testosterona no es un 17-cetoesteroide.

Burrill y Greene (1941), demostr aron en la rata hembra inmadura de 26 días de edad que el ovario y la adrenal, - non capaces de ,roducir fisiológicamente, cantidades demostrables de sustancias androgénicas.

Loraon y Lieberman (1947), hallan en la orina - humano normal y patológica esteroides con fuerte color en el - C-17.

Zuñarte (1951) dice que en la mujer en condici- nes normales, los andrógenos aparentemente solo son ,roducidos - en la corteza adrenal y que en ciertas condiciones patológicas - son ,roducidos ,or el ovario. Según este mismo autor, los 17-cetoesteroides ,ueden elevarse ,rogresivamente en la mujer, y durante los ,rimeros años de la infancia, evidenciando ,rogresivamente su ,roducción hasta la adolescencia. Albright ha demostrado un fenómeno similar al de la menarquia, que la ,recede y resulta de un aumento de la producción de los esteroides normales por la corteza adrenal en la mujer, fenómeno que se llama "adrenarquia".

La excreción elevada de los 17-cetoesteroides en la mujer normal se efectúa durante los años de vida sexual activa (15 a 40 años ,or término medio) para descender lentamente durante los años que siguen a la menopausia.

Los andrógenos en la mujer son producidos prolongando en su actividad por la corteza adrenal, durante la vida fetal por la llamada "zona X" de la corteza y posteriormente por las células de la zona reticular.

En condiciones patológicas especiales, restos embrionarios adrenales que quedan incluídos en el ovario, pueden también producirlos, así mismo como cierto tipo de tumores ováricos.

Efectos de los andrógenos en la mujer

En dosis fisiológicas es probable que los andrógenos, tengan en la mujer un efecto solo metabólico (síntesis de proteínas, formación de tejidos, retención de nitrógeno, electrolitos y agua) sin alcanzar a manifestar un efecto propiamente sexual.

Sin embargo es posible que normalmente exista una relación estrógenos/andrógenos circulantes, que condicionen ciertas reacciones psicosexuales.

En efecto ha sido demostrado en el hombre, que en ciertos tipo de homosexuales, existe una alteración de la relación normal andrógenos/estrógenos circulantes, con predominio relativo de las hormonas femeninas.

Administrados en dosis excesivas, determinan una serie de efectos metabólicos y sexuales que dependen de las dosis empleadas y la duración del tratamiento.

Fundamentalmente se trata de una acción anti-estrogénica o neutralizadora del efecto producido por los estrógenos, al menos en la esfera sexual.

La neutralización de los estrógenos es un efecto discutido pero demostrable en animales castrados. Aparentemente tiene semejanza con la neutralización química, de un ácido con una base, aunque se trata mas bien de una alteración del efecto sexual de los estrógenos.

Con dosis mayores se obtiene inhibición de la producción de hormonas gonadotróficas, especialmente también, de las tirotróficas, lactogénicas, etc.

Como consecuencia de la falta de gonadotropinas hay, primero inhibición de la formación de cuerpo lúteo (aparentemente la gonadotropina luteinizante es más sensible), posteriormente detención del crecimiento y maduración de los folículos y de la ovulación.

Simultáneamente hay inhibición en la producción de progesterona y estrógenos.

La falta de estrógenos y progesterona trae aparejada como consecuencia final, la atrofia del endometrio.

La administración prolongada de andrógenos, produce regresión del útero, vagina y genitales externos, con la excepción del clítoris.

En la glándula mamaria hay regresión de los acini glandulares y del epitelio de los conductos galactóforos.

A todos estos efectos que podrían resumirse con el término de "de-feminización" se agrega la aparición de caracteres propios del sexo masculino, lo que se conoce como "virilización".

Fels (1950) dice que exceptuando la progesterona, no hay ninguna hormona sexual, que esté limitada rigurosamente a un solo sexo. Substancias estrogénicas se observan en el sexo masculino y algunos de los muchos andrógenos que se conocen hoy, aparecen el el organismo femenino. No cabe duda que la fuente de estas hormonas, la constituye la adrenal, que es realmente una glándula bisexual.

Sumaera (1949), expresa que estudios realizados en pacientes femeninas, con enfermedad de Addison, muestran que la cortoza adrenal juega un importante rol en el crecimiento y distribución del pelo. En el hombre con las gonadas, las que parecen impartirle las características de la distribución sexual

del pelo. Las lesiones en las adrenales no causan en el hombre la pérdida de pelo sexual.

Cantilo (1950) refiriéndose a los trabajos de - Feall y de Callow y Callow, dice que merced a dichos trabajos, - se ha comprobado que las hembras ovariectomizadas, podrían eliminar estrógenos procedentes de la adrenal y que de igual modo los eunucos eran capaces de eliminar en abundancia andrógenos de - - igual origen. El conocimiento de las hormonas esteroides confirma la parte primordial que incumbe a la corteza adrenal en el - equilibrio incretorio a saber: cooperar con las gonadas en la - elaboración de hormonas específicas, reforzar en caso de necesidad estos principios activos con el aporte de hormonas idénticas o muy semejantes, elaboradas en la corteza misma y finalmente - equilibrar la sexualidad del individuo, suministrando la necesaria proporción de hormonas del sexo opuesto.

Es bueno que se conozca esta admirable regulación de la sexualidad por la corteza adrenal; lo es ante todo - porque la glándula adrenal nos aparece así no ya como un órgano desequilibrante, llamado a ejercer influencias contrarias a la - armonía de nuestra individualidad, sino mas bien como un corrector incesante de la personalidad psicosomática, a la cual mantiene en posesión de todos los principios sexuales viriles o femeniles, según el caso.

Las apreciaciones anteriores han sido confirmadas en trabajos como el de Donoso (1950) quién expresa que en la corteza adrenal se han encontrado andrógenos, estrógenos y progesterona. El hecho de que los andrógenos y estrógenos continuen siendo excretados en eunucos y en animales castrados, parece indicar que la adrenal es una verdadera glándula sexual. Esto se - confirma en la observación clínica de ciertos tipos de tumores o hiperplasia de las adrenales en mujeres, que producen virilisa-

ción, llegando en casos extremos a constituir verdaderos cuadros de hermafroditismo (seudohermafroditismo). Algunos de estos esteroides son excretado por la orina como 17-cetoesteroides.

Gebauer y Linke (1951) cita a las granulaciones fucsinófilas de la zona reticular de la corteza adrenal como las responsables de la producción de Androsterona.

Castex y Schteingart (1951) expresan que los análisis de orina revelan la presencia de andrógenos biológicamente activos, tanto en el hombre como en la mujer.

Foglia (1954) dice que en la mujer los 17-cetoesteroides se originan en el ovario y en la corteza adrenal. Según este autor no está bien demostrado que la placenta o el lóbulo anterior de la hipófisis los produzcan como ha sido mencionado a veces, la corteza adrenal originaría Adrenosterona y otros andrógenos y el ovario Allo-pregnano-3β-ol,20 ona.

Botella Llusia (1953) inyecta gonadotropina coriónica en sujetos normales y castrados como test funcional de la porción sexual de la corteza adrenal, encontrando que 24 horas después de la inyección de 5000 unidades internacionales de gonadotropinas coriónicas, se produjo un aumento de 17-cetoesteroides. Ese aumento fué más marcado en la mujer, especialmente en la mujer castrada.

Los Estrógenos han sido aislados de la corteza adrenal por Beall (1939) y por Callow y Emmens (1940).

Leroy (1950) injertando corteza adrenal de una capona a una rata observa la producción de estro.

Levy-Simpson y Joll (1938) y Botella Llusiá (1945) encontraron estrógenos, tanto en varones como mujeres afectados de hipercorticalismo. Se supone que los estrógenos que apa

recen en la orina después del climaterio y también en las mujeres castradas, son de origen corticoadrenal. La substancia estrogénica aislada de la corteza adrenal es siempre la estrona, pero nunca el estradiol.

La estrona es también un 17-cetoesteroide, aunque de acción contraria a la de los andrógenos. Se supone un origen metabólico común de la estrona y de los 17-cetoesteroides de acción andrógenica en el tejido cortical. Fekete y Little - - (1945) han señalado que existe otra substancia de origen también corticoadrenal intermediaria entre los estrógenos y los andrógenos, la 3,5-Androstandieno 17-ona, que carece de hidroxilo en posición 3, propio de la estrona y este compuesto tendría propiedades cancinogénicas mucho más intensas que los estrógenos comunes. Esta substancia ha sido encontrada por Wolfe (1941) en la corteza y permite suponer que la actividad cancerígena que los estrógenos presentan en los años posteriores a la menopausia se debe a que éstos son estrógenos patológicos metabolizados por la corteza adrenal, en vez de por el ovario.

La Progestorona en la corteza adrenal fué hallada por Engelhart (1937) en el cerdo, por Beall (1940) en el buey y por Callow (1940) en el caballo.

Venning y col. (1939), Finkler (1941) y Botella Llusiá (1951), han encontrado pregnandiol en la orina de sujetos con síndrome hipercortical.

Durante el embarazo se supone que la corteza adrenal acude en auxilio del cuerpo amarillo y de la placenta para producir hormona lutéinica, esto se deduce porque la lutectomía durante los primeros tiempos de gestación, no produce aborto ni disminuye la secreción de progesterona (Botella Llusiá, 1946).

La agrupación de los corticoesteroides en tres tipos principales, no presenta ningún valor absoluto y tiene sig

nificación solamente si se tiene en cuenta el efecto dominante - de cada uno. Ninguno de los esteroides de estos grupos esta completamente desprovisto de la actividad de los esteroides de los restantes. Así varios andrógenos y mas aun la progesterona poseen ciertas propiedades metabólicas que la aproximan a la desoxicorticosterona y esta última no está completamente desprovista de acción en el metabolismo hidrocarbonado. También la cortisona administrada en dosis suficientes presenta propiedades notablemente masculinizantes que se traducen en la mujer ya sea por una tendencia al virilismo o bien por interrupciones de la menstruación. Por otra parte entre algunas de las propiedades de los mineralocorticoides existe un extraño <u>anta onismo</u>, en el cual ha insistido Selye, particularmente. En efecto este autor ha demostrado en el curso de diferentes experiencias efectuadas con roedores, que la desoxicorticosterona en exceso era capaz de bloquear algunos de los efectos de la cortisona, mientras que esta última podía a su vez en determinadas condiciones, contrarrestar eficazmente la acción de la desoxicorticosterona. Así la cortisona - - ejerce una acción inhibidora sobre el desarrollo del reumatismo experimental y del edema anafilactoide de la rata, mientras que la desoxicorticosterona por el contrario favorece la aparición - de estas afecciones.

La cortisona combate también la hipernatremia - provocada por la desoxicorticosterona; ejerce una acción antagónica sobre la elevación del umbral de sensibilidad al electro- - shock y sobre la hipersensibilidad a la insulina provocada por - los mineralocorticoides. Por último la cortisona combate eficazmente la hipertrofia cardíaca que en diferentes animales es determinada por la implantación de una dosis importante de desoxicorticosterona.

Relación de la Cortezo Adrenal con la Hipófisis:

Los estudios sobre cortisona y corticotropina - son de candente actualidad y se encuentran en pleno desarrollo y evolución, al punto de necesitar de las observaciones y aportaciones de todos los que trabajan en los mismos (Esforzo Membrives, 1952).

Se han llevado a cabo una muchas observaciones experimentales y clínicas que demuestran la existencia de - una serie de interrelaciones funcionales entre la pro-hipófisis y el tejido cortico adrenal (Caudel, 1953).

Como consecuencia de la hipofisectomía se produce una atrofia considerable del tejido cortical. En treinta días el espesor de la corteza adrenal de las ratas puede quedar reducido a una quinta parte del normal, mientras que el peso de toda la glándula llega a descender en 50 ó hasta un 70 %. La médula no experimenta alteraciones en su tamaño o en su estructura.

Cuatro o cinco semanas después de haber extirpado el lóbulo anterior de la hipófisis, la corteza adrenal alcanza su grado máximo de atrofia, quedando reducida a una estrecha franja de células en la que difícilmente llegan a distinguirse - las tres zonas características. El citoplasma se retrae, los mitocondrios y el Aparato de Golgi desaparecen y la ordenanción celular se borra.

La hipofisectomía altera también la histoquímica cortical. Las granulaciones y vacuolas sudanófilas y birre- - fringentes disminuyen, la proporción de ácido ascórbico y colesterol libre y esterificado desciende y finalmente acaban por desaparecer las inclusiones lipoideas, que dan las reacciones histoquímicas características de los esteroides.

Colombo (1949) dice que la hipofisectomía prov̲

ca atrofia cortical sobretodo de sus capas internas, atrofia - - que puede ser evitada por la administración de ACTH. Cuando disminuye la concentración circulante de las hormonas de la corteza, la hormona ACTH también disminuye.

Según Feldman (1951) el tamaño, peso y morfología de la adrenal, es regulado por la ACTH. Cuando esta hormona aumenta, provoca el aumento de los grupos sulfonilos positivos - de los tejidos y del material birrefringente, en el animal intacto. La ausencia de hormona seguida a la hipofisectomía provoca una atrofia de la adrenal y una disminución de estas sustancias.

Todos estos fenómenos confirman que la extirpación del lóbulo anterior de la hipófisis crea una marcada disminución de las funciones de la corteza adrenal.

La regeneración del tejido cortical después de la extirpación de una parte del cuerpo, ha contribuído a demostrar la existencia de estímulos tróficos sobre las adrenales, - por parte del lóbulo anterior de la hipófisis. En los animales de laboratorio la extirpación de una adrenal, va seguida de la hipertrofia compensadora de su congénere. En algunos animales - como la rata, en que es frecuente la presencia de tejido cortical accesorio, la suprarrenalectomía puede no ser mortal, debido precisamente a la hipertrofia de estas pequeñas formaciones intercalares, que llegan a suplir por completo, las funciones de ambas glándulas. Ahora bien si a un animal se le extirpa la hipófisis y una adrenal, no se produce la hipertrofia de la glándula restante y pueden aparecer manifestaciones de hipocorticalismo.

La viabilidad de los injertos corticales dependen también de la integridad funcional de la prehipófisis. La implantación de un pequeño fragmento de adrenal a un animal adrenalectomizado en cuyo de regenerar una nueva glándula a-renta de tejido cortical. El injerto llega a hiperplasiarse en un grado -

tal, que hasta puede compensar completamente la insuficiencia. Los injertos nunca prenden en el animal sin hipófisis, en el que tiene adrenales, o en el que se administran grandes dosis de extracto cortical. En cualquiera de las tres condiciones que acaban de señalarse, el estímulo hipofisario es insuficiente para mantener la viabilidad del injerto. En el primero de los casos falta el órgano productor de los estímulos. En el segundo caso, la presencia de las adrenales, mantiene el equilibrio entre la pre-hipófisis y la corteza, y el estímulo que llega al fragmento injertado es insuficiente para causar su hiperplasia. En el tercer caso la administración de extracto cortical evita también la hiperfunción estimuladora del lóbulo anterior de la hipófisis.

La administración de dosis excesivas de cualquier producto hormonal, produce una <u>atrofia</u> compensadora de los órganos, a los que normalmente incumbe la elaboración de la hormona administrada. Se ha comprobado que la administración de grandes cantidades de extracto cortical disminuye la actividad de dichos órganos y acaba por presentarse una atrofia de los mismos que tiende en lo posible a compensar el estado de hipercorticalismo. Administrando grandes dosis de extracto cortical la producción de factores hipofisarios que estimulan la corteza adrenal disminuyen, el órgano entra en inactividad funcional y termina por atrofiarse. Sin embargo si conjuntamente con el extracto cortical se administra extracto hipofisario a dosis elevadas no se presenta atrofia de las adrenales.

Según Weissbecker (1955) cuando la hipófisis en vía ACTH a la sangre, la cortoza adrenal se hipertrofia y forma hormonas en cantidades acrecentadas (corticoesteroides: corticosterona e hidrocortisona por una parte y andrógenos por otra). Estas hormonas corticales segregadas por efecto del estímulo de la ACTH llegan por vía hematógena a la periferia y también al lóbulo

antehipofisario. Cuando esta hormonemia aumenta la hipófisis frena su producción de ACTH y lo hace en la misma proporción en que aumenta la tasa de hormona cortical. Existe pues una relación recíproca simple, numérica en teoría. La relación hipofiso-cortical es en cierto sentido un sistema autorregular autónomo, que funciona análogamente a un termóstato.

Hormona Adrenocorticotrópica: También llamada corticotropa, adrnnotropa; adrenocorticotropina, corticotropina; adrenalotropa; corticoestimulina; adrenocorticotropa; ACTH (adrenocorticotrophic hormone) (Santos Ruiz, 1954).

Ya en 1925 Smith comprobó que la administración de extracto total del lóbulo anterior de la hipófisis evita la atrofia adrenal consecutiva de la hipofisectomia. Posteriormente Emery y Atwell, Friedgood y Houssay y col. comprobaron que las inyecciones repetidas en grandes cantidades de extracto alcalino de la prehipófisis provocan una marcada hipertrofia e hiperplasia de la corteza adrenal del perro, la rata y el cobayo.

Collip, Anderson y Thompson (1933), citados por Cañadel, fueron los primeros autores que elaboraron un método para la extracción y purificación de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH). Posteriormente Li, Simpson y Evans han obtenido preparados de hormona adrenocorticotrópica, libres por completo de otros factores hormonales mediante el fraccionamiento salino de los extractos alcalinos de prehipófisis. Sayers, White y Long han obtenido la misma hormona mediante la precipitación isoeléctrica.

Los métodos de obtención varían según el material de partida provenga de cerdo, carnero o buey y sean hipófisis frescas o polvos acetónicos de hipófisis totales. Se basan en que la corticoestimulina es soluble en soluciones concentradas de acetona y alcohol (Santos Ruiz, 1954).

Según Li esta hormona es un protido que contiene los siguientes aminoácidos: Triptofano, Tirosina, Metionina, Cistina, ácido glutámico, ácido aspártico, serina, glicocola, lisina, alanina, arginina, prolina, leucina, isoleucina. Es decir una docena de radicales monopeptidos.

Por degradación enzimática o clorhídrica se liberan productos polipeptídicos mas activos denominados ACTP (adrenocorticopolipeptidos) que incluso sin previa hidrólisis pueden ser separados por cromatografía con resinas cambiadoras de iones los cuales contienen alrededor de ocho aminoácidos y por lo tanto permiten esperar la síntesis de este importante factor hormonal hipofisario.

Algunos análisis señalan su contenido en cistina y tirosina (Mendivey y Salum, 1947); otros señalan un bajo contenido en cistina y su carencia de metionina y tirosina (Santos Ruiz, 1954).

White y Fierce (1953) en estudios realizados sobre la hormona adrenocorticotropica proponen el término de - - Corticotropina A, a una fracción derivada de un extracto de pituitaria del cerdo.

Brink, Kuehl, Richter, Bazemore, Ayers y Folkers, citados por Santos Ruiz (1954), han obtenido de los hidrolizados pepsínicos de corticotropina por fraccionamiento con oxicelulosa un producto 300 veces mas activo que los conseguidos hasta ahora y la denominan corticotropina B.

Moruzzi, Rossi, Montanari y Martinelli (1954), dicen que en la sangre humana existen dos fracciones de ACTH, una "activa" y otra "activable". La primera es lábil y ultrafiltrable, puede ser determinada por métodos directos. Después del tratamiento con oxicelulosa deja de ser evidenciable. En el plasma de algunos pacientes con hipoadrenacorticismo, no existe la -

fracción "activa". El plasma del cerdo contiene la llamada fracción "activable".

La hormona adrenocorticotrópica, es una proteína, que según Portnor, Ly y Mayors posee un peso molecular de alrededor de 20.000, dato obtenido por ultracentrifugación y difusión.

Su punto isoeléctrico es de .4.7 a 4.80, es soluble en agua y resistente el calor (De la Higuera Rojas y Calvez Montes, 1950).

Hay discrepancia en lo que respecta al peso molecular de esta substancia y mientras que algunos autores aceptan el dato anterior otros por el contrario, indican que es - - 10.000 (Sedman y col.) y otros consignan que de toda la molécula los polipéptidos activos obtenidos dan solamente una cifra de - 1.200.

Valoración: Reinhardt y Li han comprobado que - la potencia de los diversos tipos de ACTH, varía con el método - de valoración empleado y por lo tanto proponen que el ensayo rutinario de esta hormona, debe realizarse con más de una técnica, en orden de evitar interpretaciones falsas.

Los métodos pueden ser directos o indirectos. Entre los segundos tenemos los basados en una modificación metabólica, tales como:

a) Prueba del balance nitrogenado.
b) Prueba de la tolerancia a la glucosa o prueba de la hiperglucemia provocada.
c) Prueba de la sensibilidad a la insulina.
d) Prueba de la hiperglucemia adrenalítica.
e) Prueba de las modificaciones del metabolismo de los lipidos.

Otro grupo de métodos están basados en las modificaciones leucocitarias, en relación con la actividad de la adre

nal, ya que el ACTH provoca una linfopenia con liberación de enfisemas, contenidos en las células mononucleadas; disminuye el tanto por ciento de polinucleares eosinófilos y aumenta el de los neutrófilos (Thorn y Forcham).

Thorn y col. (1948) estudian también las variaciones, de la uraturia y 17-cetocsteroides, después de la inyección de hormona corticotropa, ya que la excreción de ácido úrico y 17-cetocsteroides aumentan, disminuyendo la creatinuria.

Los métodos más específicos y directos, son los que estudian las modificaciones ponderales o histoquímicas de la glándula adrenal, tales como: a)

a) Método de Collip y Mcon y de Simpson, Evans y Li respectivamente basados en el aumento de peso de las glándulas adrenales, después de la inyección de extractos a la rata hipofisectomizada.

b) Método de Blumenthal, que estudia el número de mitosis celulares en las adrenales, de cobayos hipofisectomizados.

c) Método de Selye y Halint que estudia la reparación histológica de las células de la cortoza adrenal en las ratas hipofisectomizadas.

d) Método de Simpson, Evans y Li que estudia el efecto del ACTH sobre el restablecimiento del reparto normal de lipidos en la adrenal, los cuales se fijan al formol y colorean con Sudán (zona sudanófila).

e) Método de Sayers, modificado recientemente por Coschwind, que estudia el contenido en ácido ascórbico, de las glándulas adrenales, el cual disminuye de manera notable por la acción de la corticoestimulina.

También se han ensayado métodos fundamentados en la valoración de los cetoesteroides urinarios, ya que todos los autores, admiten que los 11-oxiesteroides son negregados bajo la influencia de la corticoestimulina. También no ha utiliza-

do el método de la determinación de los 17-cetoesteroides (Thorn, 1953 y Rivoiro y col., 1953).

Entre nosotros De la Balze y col. (1952) aplican las pruebas de la Insulinopenia adrenalínica y por ACTH para explorar el sintoma hipofisoadrenal.

En un importante trabajo realizado en 1954, Brunty, refiriéndose a la excreción de los 17-cetoesteroides, consigna que la excreción de los 17-cetoesteroides no constituye en la prueba mas rigurosa para el diagnóstico de la insuficiencia adrenal completa, después de una adecuada estimulación de la corteza adrenal. La excreción de 17-cetoesteroides es medida en dos períodos consecutivos de veinticuatro horas y el paciente recibe 20 unidades de ACTH ó el intramuscular, cada doce horas, durante un período de 48 horas. La excreción de los 17-cetoesteroides es medida de nuevo para los últimos 24 horas del período. significativo aumento(excediendo del 50 por ciento del nivel básico) indica que la corteza adrenal responde al estímulo.

Thorn y col. (1951) han desarrollado un método de la vía endovenosa que evita las desventajas del test intramuscular (inactivación del ACTH en los tejidos). Está basado en el recuento de los eosinófilos y el control de la excreción urinaria de los 17-cetocsteroides y de los 17-hidroxicorticoides. Se disuelven 20 unidades de ACTH en 500 cm^3 de solución fisiológica de cloruro de sodio y se perfunde la solución gota a gota - por vía intravenosa. Se cuentan los eosinófilos antes de la administración de ACTH y 10 a 12 horas después del comienzo de la - perfusión. En el individuo normal el descenso de los eosinófilos oscila entre 80 y 100 %. La excreción urinaria de 17-cetoesteroides aumenta aproximadamente 5 mgs. el día de gota a gota y la de hidroxicorticoides 10 a 15 mgs aproximadamente con relación a - las cifras de referencia.

Unidades: Se entiendo por unidad internacional (U.I.) de ACTH, la cantidad de 1 miligramo de un preparado Standard internacional (Pasqualini, 1952).

Se denomina unidad de mantenimiento a la cantidad diaria de extracto, administrada durante 14 días, que permite el mantenimiento del peso de la adrenal en 26 mgs de ratones hipofisectomizados de 40 días.

La unidad corticoestimulina es la más pequeña cantidad de extracto que restablece en 4 días el reparto normal de lipidos en la adrenal de ratones hipofisectomizados de 26 a - 28 días de edad.

Una unidad de Laboratorio equivale la dosis de hormona capaz de reducir en un 20 % el contenido de ácido ascórbico de las adrenales de ratones jóvenes hipofisectomizados (Santos Ruiz, 1954).

En la actualidad dada la pureza con que se obtiene la hormona adrenocorticotrópica, las unidades biológicas - han dejado paso a las unidades ponderales y la cantidad de hormona se expresa en miligramos.

Formación de la hormona adrenocorticotrópica.

Se atribuye a las células basófilas de la hipófisis (Hartman y Brownel, 1952; Tuchmann Du Plessis, 1951; De la Balze, Perino y Lobo Van Gelderen, 1953).

Debe consignarse sin embargo que los datos experimentales, anatomopatológicos y clínicos que apoyan esta hipótesis no tienen un fundamento absolutamente cierto. En favor de la misma existen numerosas observaciones que demuestran la coincidencia del basofilismo pituitario y la hiperplasia cortical (Cushing). Se ha comprobado también que con la tiroidectomía las células acidófilas tienden a desaparecer mientras que la adrenal - se mantiene. Sin embargo en la acromegalia, proceso en el que -

exista constantemente una hiperfunción de las células acidófilas es frecuente también la hiperplasia cortical.

La cantidad de ACTH contenida en la hipófisis - varía según la especie animal y probablemente el sexo. Según - Hartman y Brownel (1952), el cerdo es el animal cuya hipófisis tiene mayor actividad corticoestimulante, siguiendo a continuación el hombre, el cordero, el caballo y el buey.

En lo que respecta a la secreción de ACTH diremos que está regulada por las necesidades del organismo en hormonas corticales. La adrenalectomía provoca en el lóbulo anterior de la hipófisis un aumento en la secreción de ACTH. Inversamente la administración de extractos o esteroides corticales, reduce - la secreción de hormona adrenocorticotrópica y causa una atrofia compensadora de la corteza adrenal.

Cualquier agresión: traumatismos, quemaduras, - exposición al frío, inyecciones de substancias tóxicas, etc., - provoca una liberación de ACTH, que estimulando la corteza adrenal aumenta su actividad secretora. Esta reacción inespecífica - tiende a incrementar la resistencia del organismo contra los - - agentes agresores de cualquier tipo. Selye (1950) encuadra con - el nombre de Síndrome General de Adaptación (S.G.A.), a las modificaciones funcionales y morfológicas del organismo animal, frente a dichos estímulos. Si los estímulos tienen duración, se suceden en el organismo según Selye, las siguientes etapas:

1º).- Reacción de Alarma (R.A.) { Fase de Shock / Fase de Contra Shock

2º).- Etapa de resistencia.

3º).- Etapa de agotamiento.

Cualquier fenómeno agresivo: "stress" aumenta - el consumo de hormonas corticales y el descenso de su concentración en el organismo estimula por vía humoral la producción de - ACTH, la cual a su vez actuando sobre la corteza adrenal, eleva

secreción de corticoides y restablece el equilibrio (Sayers y ers, 1947).

Corticotropina placentaria: Los extractos placentarios, son muy ricos en hormonas gonadotrópicas, poseen también una notable actividad corticotrópica. Así se explica el aumento de la eliminación de los esteroides corticales durante el embarazo y el efecto favorable que tiene ese estado sobre algunas enfermedades del mesénquima en las que se halla indicado el tratamiento con cortisona o ACTH.

Plato (1953) comprueba en la mujer castrada quirúrgicamente, cuando es tratada con gonadotropina coriónica humana, un aumento en la excreción de todas las fracciones de 17-cetoesteroides, lo cual según el autor solamente puede ser atribuída a un estímulo de la corteza adrenal.

Tellez, Yañez y Ramuy (1952), ponen en evidencia la acción de la gonadotropina coriónica humana sobre la excreción de 17-cetoesteroides. Sugieren el empleo de este efecto como un test para el diagnóstico diferencial entre la insuficiencia testicular endrogénica primaria, en la que no hay aumento de eliminación de 17-cetoesteroides, de la secundaria debida a hipopituitarismo, en la que la gonadotropina coriónica incrementa la excreción de 17-cetoesteroides.

Borell (1954) estudia el efecto de altas dosis de gonadotropina coriónica en la excreción de 17-cetoesteroides neutros en la mujer, comprobó que una inyección intramuscular de 50.000 unidades internacionales de gonadotropina coriónica, provoca un aumento en la excreción de los 17-cetoesteroides urinarios de las 24 horas, atribuible a la mayor secreción de esteroides adrenocorticales.

Piotti, Bonamoni y Rech (1955) comprueban que - la administración de 2.500 u.i. de gonadotropina coriónica causa en los sujetos normales y con hipogonadismo secundario un aumnto

de la parte gonádica de los 17-cetoesteroides conjugados.

Acciones de la Hormona Adrenocorticotrófica:

La inyección de hormona corticoestimulante evita la atrofia corticoadrenal consecutiva a la hipofisectomía y - en dosis suficientes y repetidas causa hipertrofia y aumento de tamaño de las mismas.

El aumento de tamaño de las adrenales se debe - primordialmente a la hipertrofia de las células corticales y en segundo lugar al incremento numérico de las mismas.

La inyección de ACTH altera profundamente la - composición química de la corteza adrenal. Houssay, Biasotti, Mazzocco y Sammartino (1933) observaron una intensa disminución de los lipoides corticales después de administrar un extracto cortical rico en hormona adrenocorticotrópica.

Sayers y col. (1944) comprueban que la administración de una sola inyección de ACTH en ratas de 24 días de - - edad provoca un descenso de 30 a 50 % en el ácido ascórbico y - una marcada disminución en el colesterol.

Además de sus efectos sobre la corteza adrenal, la ACTH posee una notable acción general y efectos locales sobre la mayor parte de órganos y sistemas de la economía. Todas estas acciones son secundarias al aumento en la secreción de hormonas corticales, no apareciendo por lo tanto en el animal adrenoprivo (Cañadél, 1953).

Thorn y col. en 1947, comprobaron cambios en la excreción urinaria de los corticoesteroides, relacionados con - los efectos metabólicos durante la administración prolongada de ACTH en el hombre.

Bergner y Deane (1949) observan que la administración de 10 miligramos de ACTH, provoca en las ratas, disminución de los esteroides de la corteza adrenal.

Forsham y Thorn (1948) demuestran que una dosis única de 25 mg de ACTH provoca modificaciones hematológicas considerables: caída de la tasa de eosinófilos, disminución de los linfocitos, aumento discreto de los neutrófilos. Por otra parte comprueban un aumento de la excreción urinaria de sodio y potasio, del cloro y del ácido úrico. También aumenta la tasa de 11-oxiesteroides y de 17-cetoesteroides.

El aumento en la excreción de 17-cetoesteroides consecutivo a la administración de ACTH, ha sido comprobado también por Forsham (1951), Ronzoni (1952) y Pond (1955).

Regulación hipofisaria de la actividad corticoadrenal.

Aunque se acepta generalmente, que la adrenohipófisis ejerce una influencia reguladora sobre la corteza adrenal, no hay acuerdo general respecto al número exacto de tropinas hipofisarias que actúan sobre las adrenales.

Los diversos puntos de vista pueden discutirse convenientemente en 4 categorías (Sayers, 1951).

Concepto de las tropinas múltiples: Selye (1947) da por sentada la existencia de cuatro tropinas hipofisarias diferentes. Según esta opinión la corteza adrenal es estimulada: por una "glucocorticotropina" a secretar esteroides que influyen sobre el metabolismo hidrocarbonado; por una "mineralocorticotropina" a segregar desoxicorticosterona (DCA) o esteroides semejantes a DCA, por una "lipocorticotropina" a segregar esteroides que provocan el depósito de grasa en el hígado y finalmente por una "testocorticotropina" a segregar andrógenos. La posibilidad de que la corteza adrenal segregue hormonas distintas independientemente y según las necesidades del organismo permanece sin demostrar.

Concepto de las dos tropinas: Se han reunido -

pruebas indirectas y circunstanciales en apoyo de la opinión de que la corteza adrenal, segrega una hormona "S" o "azúcar" bajo la influencia de una corticotropina y una hormona "R" poseedora de las propiedades anabólicas de un andrógeno bajo la influencia de la hormona hipofisaria lutoinizante (H.L.). La cantidad total de 17-cetoesteroides en la mujer y alrededor de las dos - terceras partes de esta cantidad total en el hombre se consideran productos finales de degradación de un andrógeno segregado - por la corteza adrenal. El crecimiento del vello axilar en la pubertad en pacientes con agenesia ovárica, se atribuye a una secreción andrógena por la corteza adrenal. Reifenstein, Albright y col. (1949) interpretan la disminución de la excreción de 17-cetoesteroides, producida por la metiltestosterona en los castrados como una inhibición por el andrógeno exógeno, de la liberación de HL hipofisaria, suponiendo que la gonadotropina estimula la corteza adrenal a segregar andrógenos.

Concepto de la Autonomía: Greep y col. (1945 y 1948), creen que los 11-17-oxiesteroides se segregan bajo regulación hipofisaria, pero que los esteroides del tipo de la DCA, se segregan autónomamente por la zona glomerular de la corteza - adrenal.

Concepto Unitario: Sayers (1951) defiende el - punto de vista de que una sola tropina actúa sobre la corteza - adrenal para estimular la secreción de un esteroide o mezclas de esteroides, a cuyos efectos se deberían las varias acciones metabólicas asignadas a la glándula.

Al mismo concepto unitario llegan Farbes y Bartter (1948).

Regulación de la Actividad Corticoadrenalotropa hipofisaria:

La liberación de la ACTH por el lóbulo anterior de la hipófisis es un eslabón esencial en la serie de acontecí-

mientos iniciado por el esfuerzo que activa la corteza adrenal. Es evidente, que es la hipófisis la que interpreta las necesidades de esteroides corticales de las células de los tejidos periféricos. La hipófisis es la directora de la producción. La corteza adrenal el equipo elaborador (Sayers, 1951).

Que un factor nervioso media la liberación de - ACTH por la hipófisis anterior lo sugieren, tanto la rapidez de liberación de la hormona, como el hecho de que la adrenalina, excita el sistema hipófiso adrenal.

Según Morros Bardá (1953), el efecto de la adrenalina es mediado por centros presentes en el hipotálamo, los cuales estimulan a la pituitaria a poner en libertad ACTH.

Harris (1951) y Zuckerman (1954) afirman, que - la evidencia que se desprende de los estudios de transplante e - injerto de pituitaria, muestra que la secreción básica, continua de ACTH por la hipófisis anterior depende, en su mayor parte, de la relación anatómica de esta glándula con el hipotálamo. Estos estudios también muestran que las estructuras que conectan el hipotálamo a la adenohipófisis y que son de importancia para mantener la liberación normal del ACTH están constituídas por los vasos portales hipofisarios. Es posible que bajo condiciones óptimas, el nivel sanguíneo de las hormonas corticoadrenales ejerza un control delicado sobre la emisión de ACTH. Sin embargo se - cree probable que este controlor se efectúe a través del hipotálamo, ya que la atrofia corticoadrenal (lo que presumiblemente - significa un nivel bajo de hormonas corticoadrenales en la sangre) no logra mantener la secreción de ACTH en ratas en las que se ha transplantado la hipófisis aun sitio alejado del hipotálamo. Esto es algo análogo a lo que sucede en el mecanismo respiratorio donde el acto de la respiración se basa en el sistema - nervioso, pero es modificado por el contenido de anhídrido car-

bónico que tiene la sangre que pasa por el centro respiratorio.

Se han acumulado muchas pruebas que apoya la - conclusión que el título de hormonas corticales en los líquidos del cuerpo, regula el grado de liberación de ACTH por el lóbulo anterior de la hipófisis. La administración reiterada de esteroi des corticales produce atrofia corticoadrenal. Ingle (1938), ha demostrado que el extracto cortical previene la hipertrofia de - las adrenales, que normalmente sigue al ejercicio muscular.

La pronta liberación de ACTH, que tiene lugar tras la exposición al frío, calor, toxina tífica, histamina o - adrenalina, puede bloquearse mediante el tratamiento previo con hormona cortical. Estas experiencias pueden interpretarse como - indicadoras de que una gran variedad de esfuerzos inespecíficos, aumenta la actividad hipofisaria corticoadrenalotropa. El esfuerzo aumenta los requerimientos de hormona cortical de las células de los tejidos periféricos, la que por lo tanto es utilizada a un ritmo más rápido. La hipófisis anterior responde a la disminución de la concentración de hormona cortical que se origina en - los líquidos del cuerpo, mediante el aumento de la cantidad de - ACTH liberada. Se supone que el grado de liberación de ACTH, por la hipófisis, puede oscilar según los requerimientos de corticoesteroides por las células tisulares. Lo mismo que el sistema hipófisis-tiroides mantiene los tejidos en un estado de bienestar respecto a la hormona tiroidea (eutiroidismo), el sistema hipofiso-adrenal mantiene los tejidos en un estado de bienestar, con respecto a la hormona corticoadrenal (eucorticalismo).

La hormona cortical parece ser rápidamente utilizada o destruída por los tejidos del cuerpo; cuando se inyecta intravenosamente extracto cortical, solo puede recuperarse en la orina una fracción pequeña de la dosis total. Las acciones metabólicas de las hormonas corticales persisten solo durante pocas

horas, tras la administración de esta substancia al hombre, he-- cho que sugiere que la permanencia de los esteroides en los lí- quidos del cuerpo, es de corta duración.

Una demostración ulterior de que las hormonas - corticoadrenales se "utilizan" rápidamente por el cuerpo, es que una fracción insignificante de la producción total de esteroides por las adrenales se excreta por la orina. La cantidad total ex- cretada por el varón normal en 24 horas es equivalente en activi dad biológica a menos de 0.1 mg de compuesto E. Esto representa solo una parte mínima de la producción total de la corteza adre- nal normal, en estado de reposo (Sayers, 1951).

Según Anderson, Page y Li (1947) la administra- ción de ACTH en forma contínua, crea un estado refractario a la misma por formación de antihormona corticotrópica. Esto es algo análogo a la que ocurre con la inyección de otros factores hipo- fisarios ya que todas son proteínas dotadas de propiedades anti- génicas que al ser inyectadas provocan la formación de anticuer pos específicos que anulan sus efectos.

No son bien conocidas aún, las correlaciones que posiblemente existen entre el bloque hipotálamo-retrohipofisario y el te jido cortical. Se sabe eso si, que el lóbulo posterior de la hi- pófisis (Neurohipófisis) y las estructuras nerviosas del hipotá- lamo-núcleos supraópticos y tractos supraópticos hipofisarios - contribuyen con la corteza adrenal a la regulación del recambio hídrico y salino.

Según Weissbecker (1956) en el hipotálamo se - elaboran y se integran los estímulos más diversos: neurovegetati vo, neurocentrales y humorales. Es, pues, evidente que este órga no es una instancia que, a su vez, regula el sistema hipófiso- - corticoadrenal. Con esta instancia están conectados por lo menos dos sistemas reguladores. En la parte posterior del hipotálamo -

existen áreas que gobiernan la producción de ACTH. Hace poco según este autor fué hallada una hipoproteína, que aumenta específicamente la producción de ACTH. Parece que esta neurosecreción llega hasta la hipófisis por vía de la circulación portal hipofisaria, que es análoga a la del hígado (Harris, 1951). Las fuentes del hígado son la vena porta, las fuentes del sistema portal hipofisario están en el hipotálamo. Parece asimismo que los estímulos ergotrópicos inducen directamente esta neurosecreción. Estímulo ergotrópico significa: liberación de energía por funciones que para adaptarse necesitan un más o menos de energía; es - un proceso desasimilatorio. Cualquier solicitación somática o - psíquica constituye un estímulo ergotrópico (adrenalina, noradrenalina, toroxina, insulina, estrógenos, acidosis, inervación simpática, hipoxemia, desequilibrio electrolítico, trabajo muscu- - lar).

Se deduce que cuando en el complejo hipotálamo-sistema hipofiso-cortico adrenal falla un órgano integrante, por destrucción o déficit funcional, resulta forzosamente un trastorno en la regulación, una repercusión clínica que se traduce en - algunas de las enfermedades relacionadas con este sistema.

Existen pues evidencias que sugieren que la neurosecreción hipotalámica regularía la secreción de la adrenohipófisis. Según estos modernos conceptos, la correlación neuroendócrína no depende, pues de la proximidad anatómica entre ambos - sistemas, sino de la coexistencia de las dos funciones en una - misma formación morfológica: la célula neurosecretora. En el seno de estas células secretoras se lleva a efecto la transformación de un impulso nerviosos en descarga hormonal.

Es así por ejemplo que la secreción de ACTH y - por lo tanto de hormonas corticoadrenales, el sistema neurosecretor hipotalámico, se intercala entre el circuito aferente nervio

so y el eferente hipofisario-adrenal (Rev.Clin.Esp., 1957).

En lo que respecta al ciclo secretor cortico- - adrenal, Di Raimondo y Forsham (1957) han establecido en forma - documentada que la actividad secretora corticoadrenal experimenta variaciones cíclicas en el transcurso de las 24 horas del día.

La mayor parte de la actividad de la corteza - adrenal tiene lugar durante el sueño nocturno y las primeras horas de la mañana de modo que el 70 % de la secreción diaria de - hidrocortisona en condiciones basales, es producida entre las 24 y las 9 horas. Los citados autores emplean la expresión de "anticipación" al stress de la existencia diaria para referirse a este fenómeno.

Este ciclo diario es fijo para cada individuo - determinado en cada especie y se halla solo sujeto a variaciones sobreimpuestas por modificaciones producidas en el medio externo. Interviene a tal respecto el sistema nervioso central y la secreción de ACTH por la anterohipófisis.

Puede concebirse que este ritmo se halla basado en descargas cíclicas a partir del sistema nervioso central o en modificaciones rítmicas en la actividad de las células de la corteza adrenal y sus sistemas enzimáticos. Aunque este ritmo puede ser abolido mediante la hipofisectomía, su mecanismo fundamental continúa aún, sin haberse aclarado.

Las emociones, sobreestímulos o estímulos dolorosos modificarían el ciclo básico, como resultado de una hipersecreción de ACTH, que naturalmente influye sobre el mismo.

CAPITULO IV

ESTUDIO Y EXCRECION DE LOS 17-CETOESTEROIDES NEUTROS, ESTUDIO DE TRABAJO Y CIFRAS HALLADAS EN LA ORINA.

Los 17-cetoesteroides neutros, objeto de nuestro estudio en el presente trabajo, son compuestos de naturaleza esteroidal que se eliminan por la orina, donde han sido determinados. En el organismo femenino, la corteza adrenal, produce como sabemos una serie de hormonas especificas o corticoides, cuya elaboración corre única y exclusivamente a su cargo, pero segrega también otros esteroides y entre ellos algunos con una función cetona en el carbono 17 cuya composición química o propiedades biológicas en nada difieren de las de algunas hormonas ováricas, testiculares o placentarias. Debe hacerse notar además que no siempre es posible conocer con exactitud la procedencia de las pequeñas esteroides eliminadas con la orina, siendo muy probable que algunas procedan indistintamente de la transformación de diversas hormonas elaboradas en las adrenales o en las gonadas. Empero pues que por uno u otro motivo, es imposible la total separación del metabolismo de las hormonas corticales del metabolismo general de los esteroides (Talladel, 1953).

Las células animales según Bloch y Rittenber - (1945) son capaces de sintetizar, la estructura del ciclopentano perhidrofenantreno y a lo que parece, lo hacen partiendo de pequeñas moléculas, entre las cuales está el ácido acético. Según estos autores los esteroides vegetales no serían utilizados, en dicha síntesis.

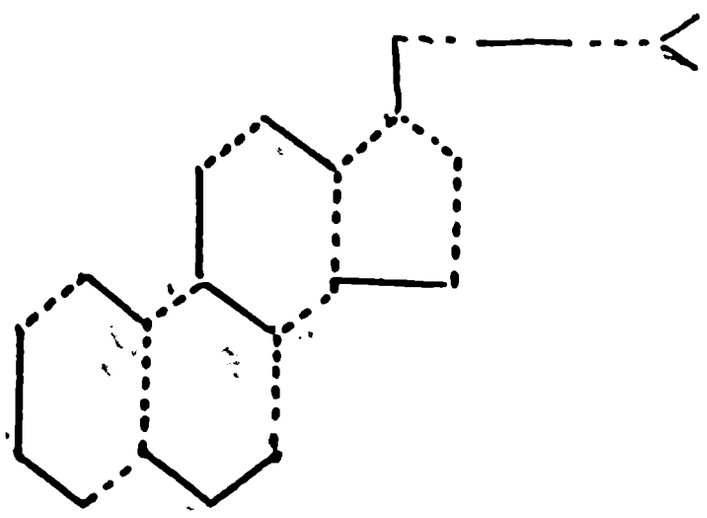
Diariamente se excretan por la orina cerca de 30 mg. de substancias esteroides, resultantes de la transformación o inactividad de las hormonas corticales y gonadales. Esta

cifra se eleva a cerca de 200 mg diarios en los últimos meses de gestación, debido al desarrollo y actividad de la placenta y es posible que también a un estado de hiperfunción fisiológica de - las adrenales y ovarios. Esta gran excreción de esteroides contrasta de manera notable con las ínfimas cantidades de hormonas que pueden extraerse de la corteza adrenal, las gonadas o la placenta.

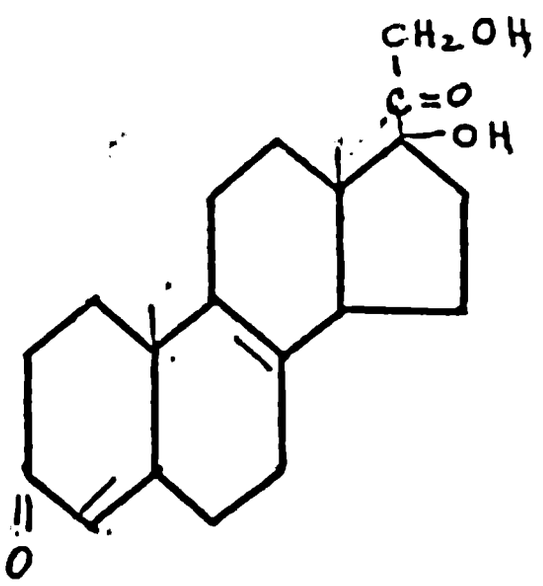
Existen varias hipótesis tendientes a explicar la <u>biosíntesis</u> de las hormonas esteroides.

Según Reichstein (1937) los esteroides podrían ser sintetizados en el organismo, a partir de otras substancias, con sólo tres átomos de carbono. En efecto, las hormonas esteroideas y otras substancias del mismo grupo, como el colesterol y - los ácidos biliares, poseen un esqueleto molecular que puede imaginarse como formado, por la unión de pequeñas cadenas hidrocarbonadas del tipo de las triosas.

Marker (1950) supone que todos los esteroides - derivados del pregnano pueden tener como precursor común un esteroide hipotético rico en oxígeno y equivalente, desde el punto - de vista químico al $\Delta^{4,8:9}$ pregnadieno 17, 21-diol 3,11,20- triona.



Biosintesis de los esteroides por la reunión de varias - triosas (Reichstein)



El $\Delta^{4,8:9}$-Pregnadieno-17,21-diol-3,11,20-triona Precursor de los corticoides (Según Marker)

Estas hipótesis no están definitivamente probadas y debo añadirse que el esteroide intermediario de Marker no ha sido aislado en ningún tejido del organismo.

La hipótesis de que el Colesterol, es el mas probable precursor de las hormonas esteroideas y de los ácidos biliares, es la mas aceptada. Apoyan estas ideas la relativa abundancia de colesterol en los órganos productores de substancias esteroidales y una serie de investigaciones bioquímicas y experimentales.

Según Foglia (1954) el organismo fabrica andrógenos partiendo de substancias no androgénicas y de constitución química más simple. Se ha demostrado inyectando a personas o animales, acetato o colesterol marcados con isótopos y recogiendo androsterona u otros compuestos radioactivos en la orina. También transforma andrógenos poco activos en otros que no lo son. Estas reacciones se han demostrado en el testículo y la adrenal. Perfundiendo testículos aislados con acetato o dehidroepiandrosterona se recoge testosterona y perfundiendo la adrenal con cortisona o hidrocortisona etc. se recogen substancias androgénicas. También los cortes o emulsiones de testículo son capaces de formar testosterona partiendo de acetato.

Se han elaborado métodos comerciales de síntesis de la testosterona y de la progesterona partiendo de colesterol. "In vivo" se ha demostrado en época reciente, la presencia de prograndiol con deuterio en la orina de las embarazadas a las que previamente se les había administrado colesterol marcado con hidrógeno pesado (Caldel, 1953).

Además se ha demostrado que el colesterol es un precursor inmediato de las hormonas esteroideas, por la administración de ACTH, que provoca la desaparición de colesterol de la corteza adrenal. Esto también se produce después de las agresio-

nan que desencadenan una reacción de alarma y causan una gran se creción de hormonas corticales (Selye, 1947). En estos casos, con la desaparición del colesterol, desaparece también el ácido ascórbico, lo cual sugiere que esta Vitamina está íntimamente asociada con el mecanismo de transformación de aquella substancia - en hormonas corticoides. Kerston, Schmidt y Staudinger (1955) - confirmaron lo anterior, realizando sus experiencias con las mitocondrias celulares de la adrenal del cerdo.

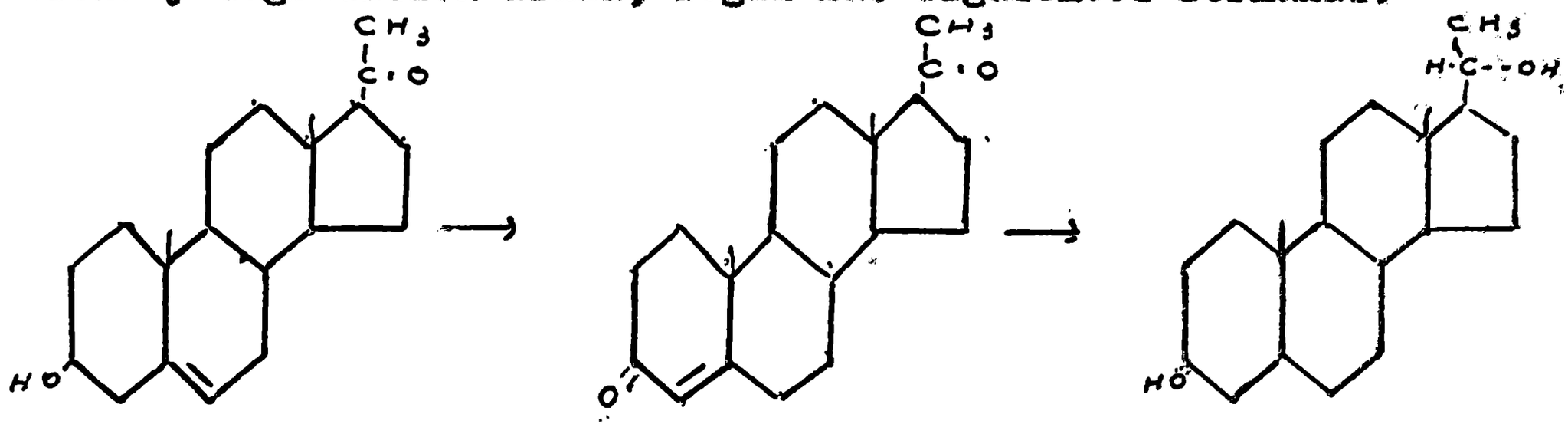
Las modificaciones intermedias que experimenta el colesterol hasta convertirse en hormonas esteroidales, son casi desconocidas. Es de suponer que la primera transformación que experimenta, consiste en una ruptura de su cadena lateral, con - formación de acetona y ácido colánico. La cadena lateral de esta última substancia se rompería nuevamente, siendo su resto oxidado en C_{20}. El producto resultante de estas transformaciones sería la Δ^5-pregnen-3(β)-ol-20- ona (pregnenolona) substancia esteroide aislada por Fuzicka y otros a partir de los extractos testiculares del cerdo.

La pregnenolona, es un esteroide de íntima semejanza estructural con la progesterona, en cuyo proceso de síntesis constituye el penúltimo estadio (Schaponnik y Gutiérrez, - 1951).

Según Zimm (1956), la pregnenolona parece ser el precursor común de todos los esteroides, no fenólicos.

Los posibles mecanismos que sigue el proceso de biosíntesis hormonal, a partir de la pregnenolona, están aún en discusión. Selye, supone que por oxidación en C.17, se forma dehidro-iso-androsterona, por oxidación en C.3 se convierte en progesterona y por oxidación simultánea en C.3 y C.21, se transforma en corticosterona.y otros varios corticoides.

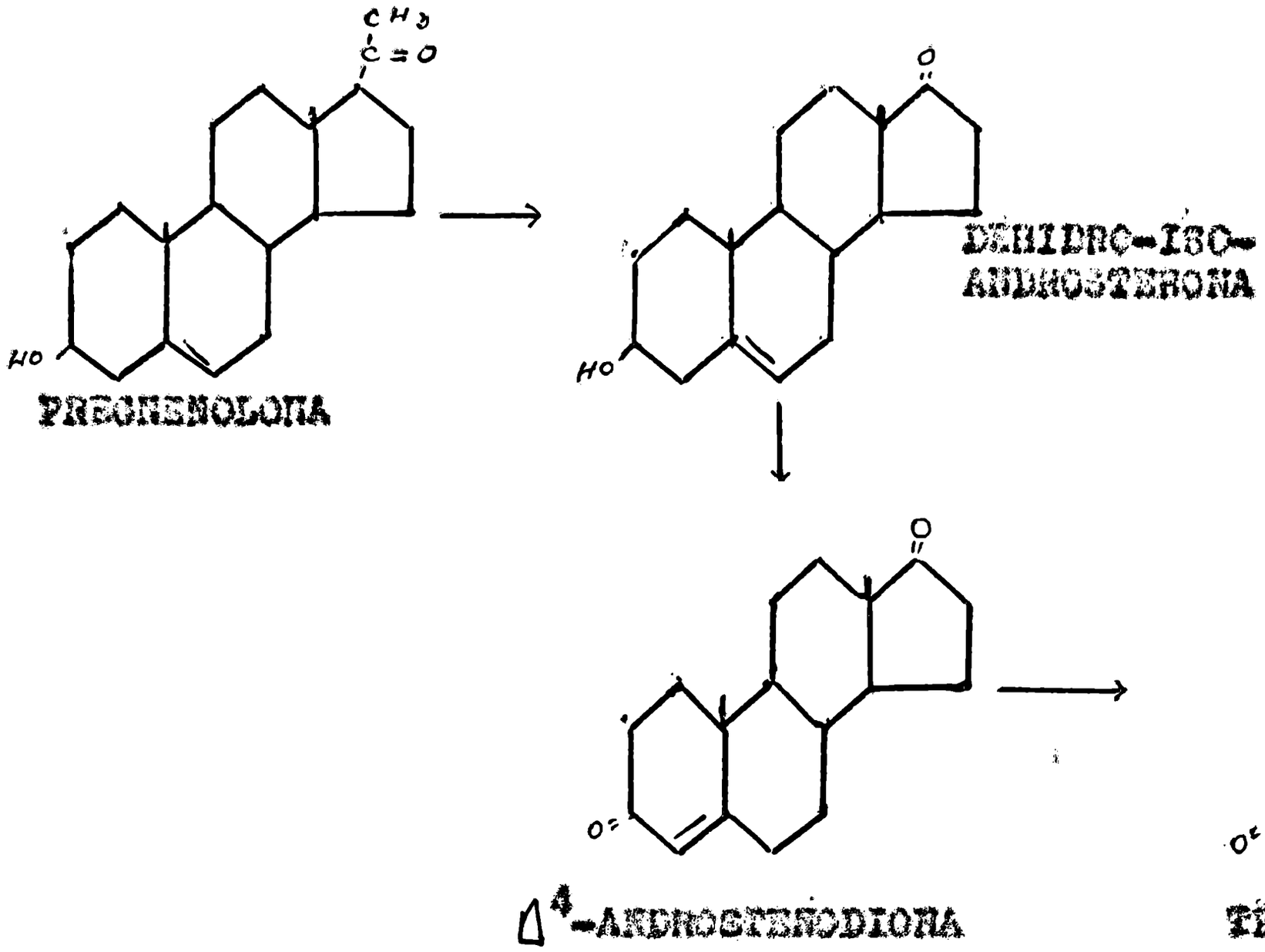
Pincus (1955) ha demostrado que la vía principal de síntesis de los corticoesteroides es: colesterol → pregnenolona → progesterona → corticoesteroides. Comprobó que después de administrar pregnenolona era posible aislar de la orina de varón cantidades proporcionales de pregnandiol, lo que demostraba la posibilidad de conversión del primer esteroide en progesterona y degradación final, según las siguientes fórmulas:



PREGNENOLONA PROGESTERONA PREGNANDIOL

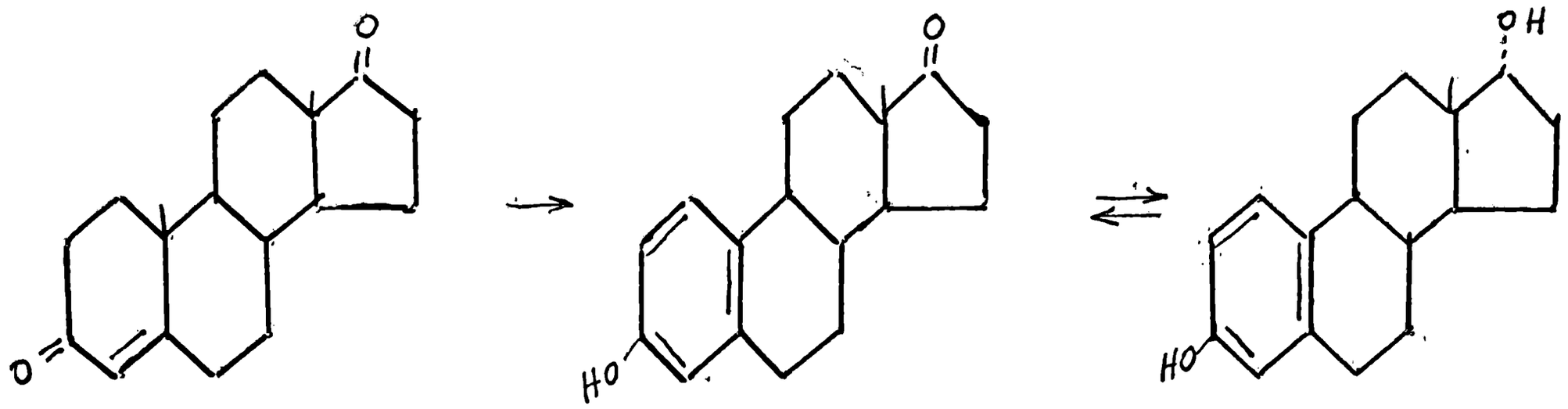
La transformación de la pregnenolona en dehidro-iso-androsterona, no ha sido demostrada, pero perfundiendo el testículo con soluciones de este esteroide, se encuentra testosterona en el líquido que ha atravesado el órgano (Butenandt, 1935).

La conversión de la dehidro-iso-androsterona, en testosterona, se efectúa probablemente, a traves de la Δ^4-androstenodiona, como substancia intermediaria. Este último esteroide ha sido aislado de los estractos corticales.

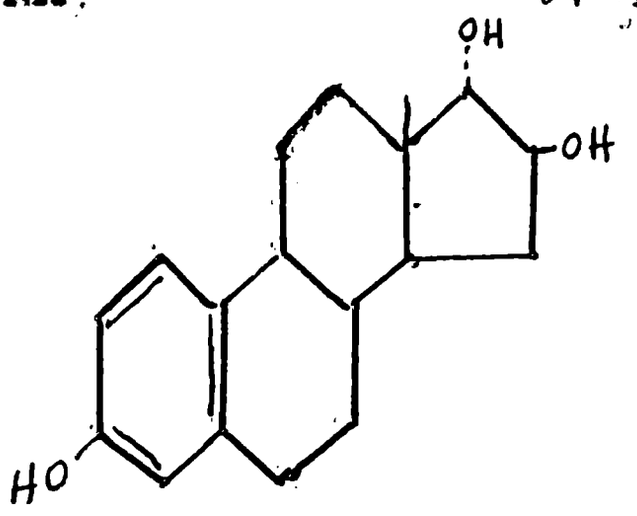


Pace (1952) confirma, que la testosterona, se forma por demolición del colesterol, siempre presente en los tejidos, y que la dehidroisoandrosterona vendría a ser un producto intermedio de esta síntesis.

Otro esteroide adrenal que posiblemente derive de la Δ^4-androstenodiona o de otra substancia parecida, es la estrona. Dorfman (1940) ha comprobado que la administración de grandes cantidades de testosterona, es seguida de un aumento en la eliminación urinaria de estrógenos en el varón. Además, en animales ha sido demostrada la transformación reversible de la estrona en estradiol y la conversión de ambos en estriol.



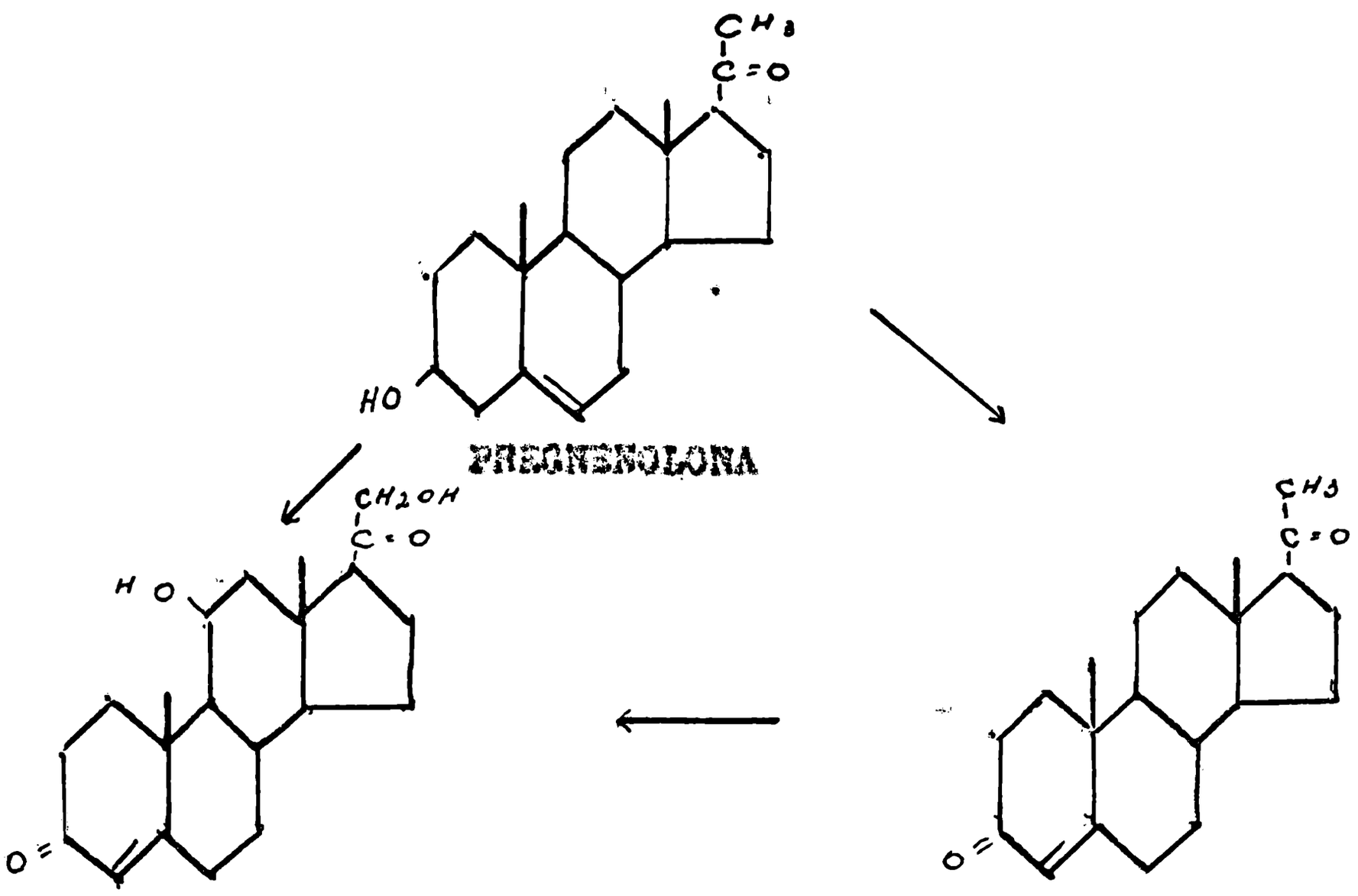
Δ^4-ANDROSTENODIONA ESTRONA α-ESTRADIOL



ESTRIOL

En cuanto a la biogenésis de las hormonas corticales, diremos que estas substancias se encuentran en el tejido cortical junto con otros esteroides inactivos, que probablemente se conviertan en hormonas, mediante varios procesos de oxidación y reducción.

Según Selye (1947), es posible que deriven también de la Pregnenolona directamente o bien a través de la Progesterona.



En el Cuadro 1, se agrega siguiendo a Colyo (1947), la posible biogénesis de las hormonas esteroides a partir de la pregnenolona.

Según Colqua (1953) la naturaleza de los precursores corticoadrenales es casi totalmente desconocida. En base a observaciones clínicas, se tiene casi la certeza de que la corteza adrenal elabora esteroides, que poseen marcadas propiedades androgénicas y anabólicas y que son distintos de aquellos - 21-carbono, pregnanos, cuyo efecto principal se ejerce sobre el metabolismo proteico e hidrocarbonado.

Henrd (1948) señala cuatro componentes corticoadrenales que son 17-cetoesteroides: el Androstano 3(β), 11(β) diol, 17 ona; Δ^4-androstano 3-11-17-triona o adrenosterona; Δ-androstano 3-17-diona; $\Delta^{1,3,5:10}$ estratrieno 3 ol-17 ona o Estrona, pero no ignora si mencionan su función 17-cetoesteroidal al

metabolismo. Según este mismo autor las hormonas corticales - aisladas y cristalizadas tienen en el C-17 cadenas laterales de dos carbonos, las que deberían ser eliminadas para convertirlas en 17-cetoesteroides. La eliminación de la cadena lateral es - - prontamente realizada en el organismo y esto parece que surge de la facilidad con que los compuestos 17-hidroxilados son transformados en 17-cetona "in vitro".

Uno de los precursores de los 17-cetoesteroides que existen en el organismo es la testosterona, se sabe también que su administración aumenta la cetoesteroiduria.

Se desconoce si la testosterona es o nó un"endrógeno adrenal" en la especie humana, pero es posible que por - lo menos en parte la testosterona o sus metabolitos reciban las mismas influencias metabólicas que el precursor andrógénico corticoadrenal desconocido y sufran la misma degradación (Engstrom, Munson y col. 1951).

Parece ser que es en el hígado, menos en el riñón y quizás en otros tejidos que los 17-hidroxiesteroides son - convertidos en 17-cetoesteroides en presencia de difosfo iridinnucleotido, por lo menos "in vitro". Primero se oxida el alcohol en C-17 a 17-cetona y luego se reduce el anillo "A" a alcohol saturado.

Según Samuels (1949), las transformaciones que - llevan a los esteroides sexuales a una disminución de su poder - andrógénico, no tienen lugar en los tejidos los cuales ejercen - su acción específica sino sobre el hígado y en segundo lugar sobre el riñón. Parecería que estos órganos buscan mantener un determinado nivel andrógénico en la sangre.

Según Moyers (1951) el hecho de que la administración de compuesto E aumente la excreción urinaria de 17-cetoesteroides junto con el hecho de que Mason y Lieberman y sus - -

col. hayan aislado 17-cetoesteroides urinarios con un oxígeno en el C-11, sugiere firmemente que los esteroides endrogénicos pueden originarse de la degradación de los esteroides corticales en el hígado y otros órganos.

Tambión Paco (1952) y Howell y Fulton (1951) - vinculan al hígado como responsable de las transformaciones e - inactivaciones de los andrógenos. De acuerdo a estos últimos autores la deficiencia de complejo B perturba gravemente la capacidad del hígado para inactivar los estrógenos pero no tiene el - mismo efecto por lo menos en grado importante por lo que hace a la testosterona.

En 1954 Coun, Pejano, Louis y Boltzer, señalan que la excreción urinaria de 17-cetoesteroides depende en parte de la ruta de administración, de la concentración sanguínea y de la capacidad del hígado para transformar los corticoesteroides al estado de 17-cetoesteroides.

Trimble (1956) hace notar que fué Zondek el primero en señalar al hígado como el órgano que produce el metabolismo esteroide, hecho que se corroboró posteriormente al demostrarse que la síntesis y la inactivación, se deben a la acción enzimática de las células hepáticas. Como ya se sabe, el hígado tiene un enorme margen de seguridad y pueden presentarse grandes lesiones antes que se manifieste un desequilibrio hormonal. El colesterol y la colina, aumentan en los procesos relacionados con el metabolismo graso y esteroide. Es probable según este autor - que el colesterol sea la substancia madre de los ácidos biliares y de las hormonas sexuales.

Se han descripto otros sistemas enzimáticos en los tejidos. Dichos sistemas, posiblemente reductores, destruirían los esteroides, pero sin originar 17-cetoesteroides, según Sweat (1948) y Brunel (1950).existirían otros sistemas enzimáti-

cos que degraderían estos 17-cetoesteroides.

Engstrom y Munson (1951) han encontrado, que - las mujeres a las que se administra una dosis única de testosterona, metabolizan este esteroide a 17-cetona en mayor cantidad en la fase progestacional que en la folicular. Si se supone que la testosterona sigue el camino que normalmente, siguen los precursores corticosuprarenales hasta 17-cetoesteroides puede suponerse - que la actividad corticosuprarenal en la mujer, sigue fluctuaciones regulares, relacionadas con el ciclo menstrual, que son equilibradas por una actividad opuesta de los tejidos, encargados de - su metabolización.

Cada compuesto androgénico, sufre en el organismo, numerosas transformaciones químicas concomitantes con la reducción de su actividad, antes de ser eliminados por la orina. Se desconocen la mayoría de los compuestos intermedios aparecidos, habiéndose identificado por ejemplo, cinco sobre diez y ocho en el caso de la testosterona. Los productos finales varían para cada andrógeno. En el cuadro II, se dan algunos ejemplos de Dorfman (1953), Samuels (1949), Samuels y West (1952).

Harrison (1953) señala que han sido importantes los progresos, relativos a los mecanismos químicos que envuelven la biogénesis de las hormonas esteroideas, como así también la de los sistemas enzimáticos, que controlan estos procesos, aunque - como hace notar Kelley (1956) la esteroidogénesis es un proceso extremadamente complicado, que incluye numerosos esteroides y enzimas diferentes, siendo muy probable que existan más esteroides y enzimas desconocidas que conocidas.

Los productos derivados del catabolismo de los esteroides, se eliminan en forma de ésteres del ácido glucurónico y del ácido sulfúrico. Con ello su actividad hormonal se reduce, al mismo tiempo que se favorece su solubilidad en la orina.

CUADRO II

ALGUNOS EJEMPLOS DEL METABOLISMO DE LOS ANDROGENOS EN HUMANOS, MAMIFEROS, CHIMPANCES, ETC.

(Datos tomados de Dorfman, 1953; Samuels y West, 1952)

Inyección de	Orina		Observaciones
Testosterona (sólo el 50% aparece en la orina y todos esos compuestos son poco activos)	Androsterona	24 %	
	3 α-Eticolenolona	19%	
	Epi-androsterona	-	Muy cuantosa en algunos casos
	Otros en pequeña cantidad		
	Androstanediol 3 α, 17 β		Solo en la mujer
Adrenosterona	11 β-hidroxi-androsterona		
	3 α--Eticolanolona		
Androsterona	Epi-androsterona		
Epi-androsterona	Androsterona		
Dehidro-epi-androsterona	Androsterona		
	3 α-Eticolanolona		

Según Doyle (1953) la naturaleza de la <u>conjugación</u> hepática de los esteroides urinarios es determinada por la orientación del grupo hidroxilo en el C-3. Los hidroxilos de los 3 α esteroides son conjugados con ácido glucurónico, mientras que los hidroxilos de los 3 β esteroides, se conjugan con ácido sulfúrico.

A continuación se consignan, los esteroides aislados de la orina como glucuronidatos y como sulfatos. (Fabrinor y Lieberman, 1950) - Cuadros III y IV.

Foglia (1954) establece, que de la orina se han extraído de 50 a 60 substancias con acción androgénica variable para cada una de ellas, pero siempre muy inferior a la acción de la testosterona. Es probable que algunas de ellas sean productos artificialmente producidos durante los procesos químicos de extracción. Según el autor, fuera de la orina no se han encontrado otras vías de eliminación.

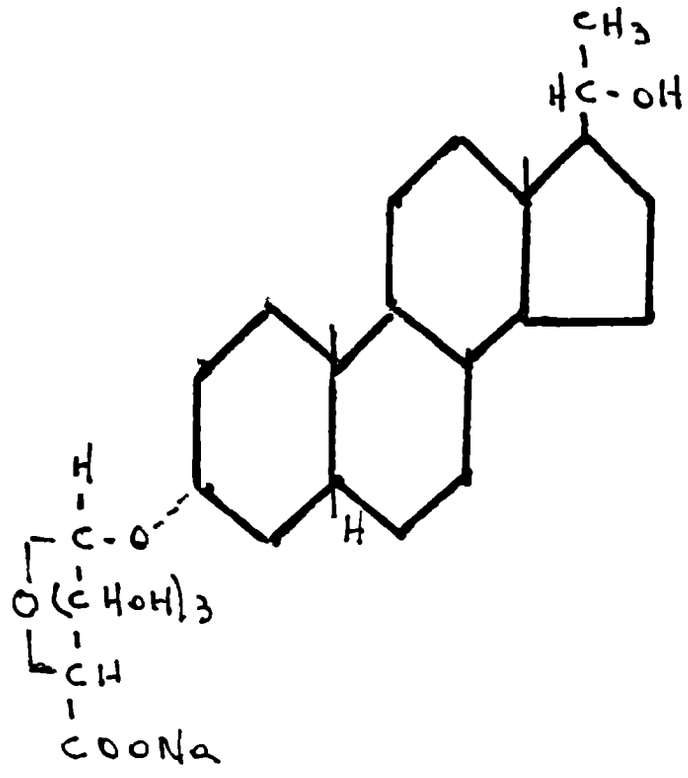
<u>1.-Cetoesteroides urinarios, hallados después de la administración de otras hormonas.</u>

Mason y Kepler (1947) administran dehidroisoandrosterona (1250 mg) a un hombre y a una mujer con enfermedad de Addison y por lo tanto con una excreción urinaria mínima de 17-cetoesteroides. Dichos autores aislan Androsterona, Etiocolanolona, Δ^5-Andrestano-3(β), 16, 17 triol y un compuesto no cetónico: $C_{19}H_{32}O_2$. Este último compuesto fué previamente aislado de una mujer que tenía un tumor adrenal. El hecho le sugiere al autor, la idea de que la dehidroisoandrosterona, puede ser un precursor importante de la Androsterona y Etiocolanona que han sido encontrados en la orina de mujeres eunucos y eunucoides.

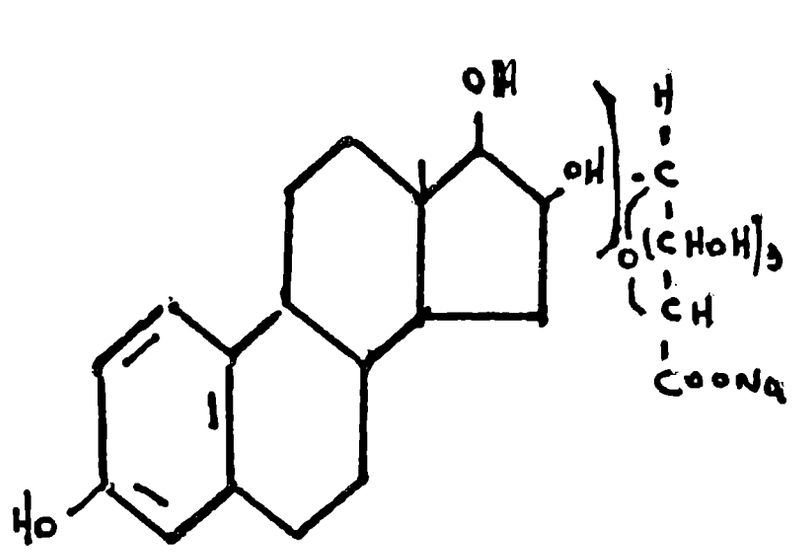
Selye (1949) expresa que la administración de corticoides, especialmente la desoxicorticosterona, provoca aumentos en la excreción de 17-cetoesteroides en los addisonianos,

CUADRO III

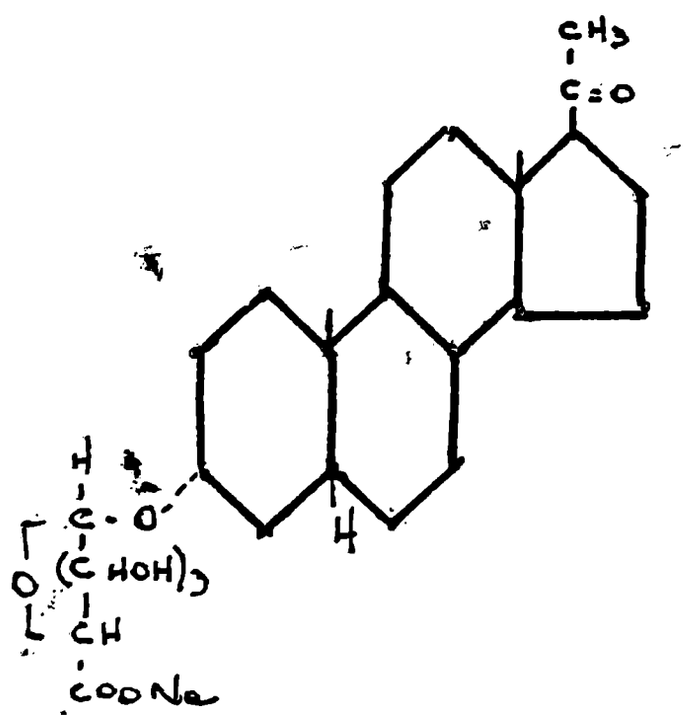
ESTEROIDES AISLADOS DE LA ORINA COMO GLUCURONIDATOS



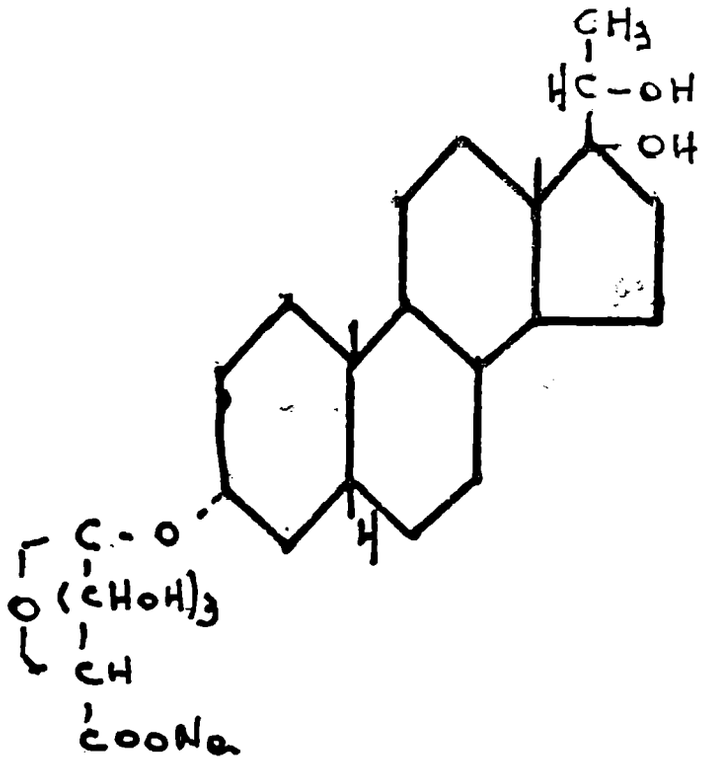
PREGNANEDIOL-GLUCURONIDATO DE SODIO



ESTRIOL GLUCURONIDATO DE SODIO



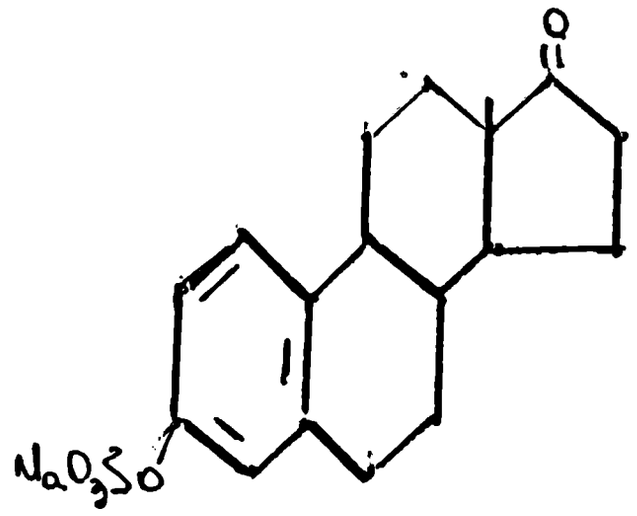
PREGNANOLONA GLUCURONIDATO DE SODIO



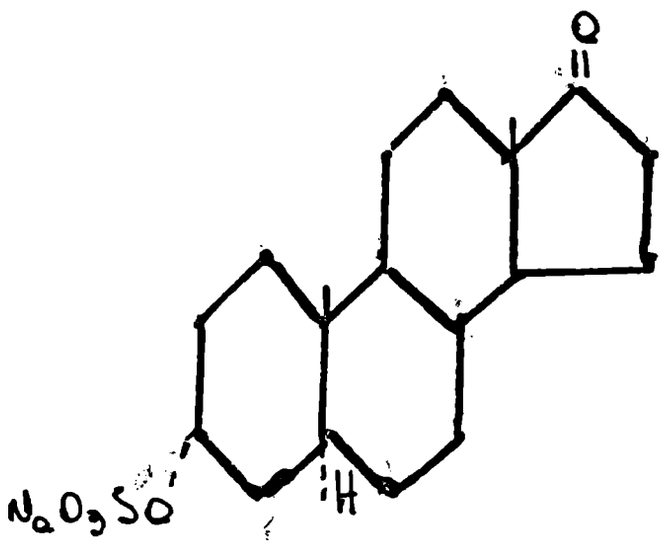
PREGNANETRIOL GLUCURONIDATO DE SODIO

CUADRO IV

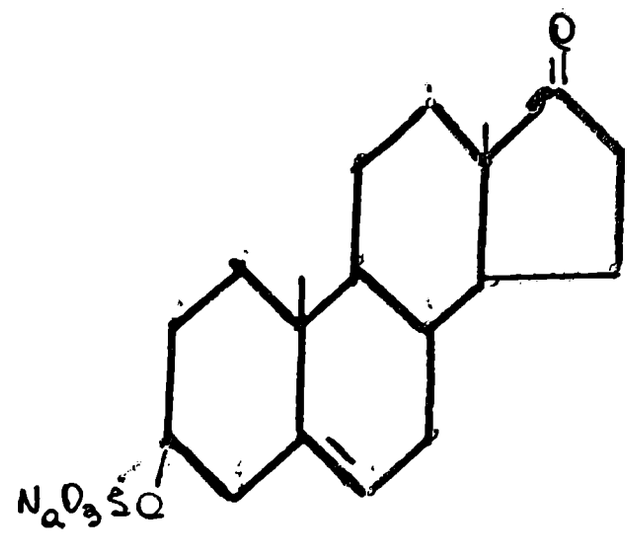
ESTEROIDES AISLADOS DE ORINA COMO SULFATOS



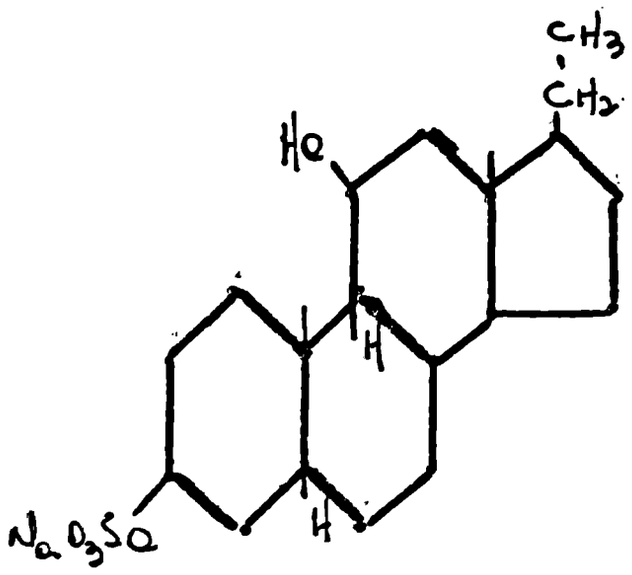
ESTRONA, SULFATO DE SODIO



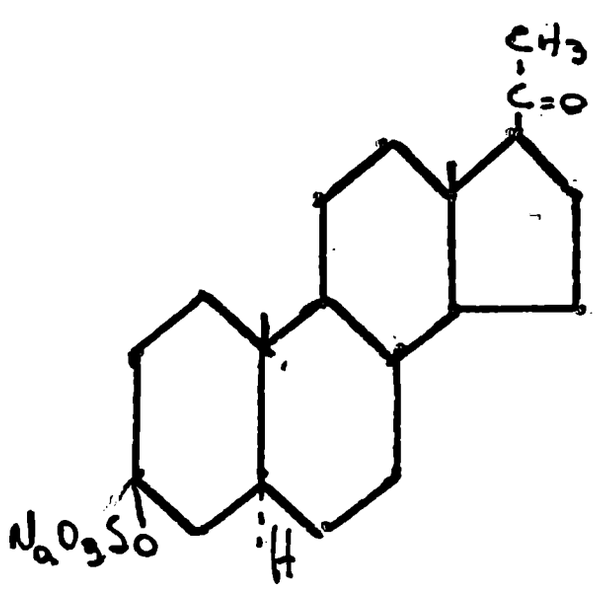
ANDROSTERONA,
SULFATO DE SODIO



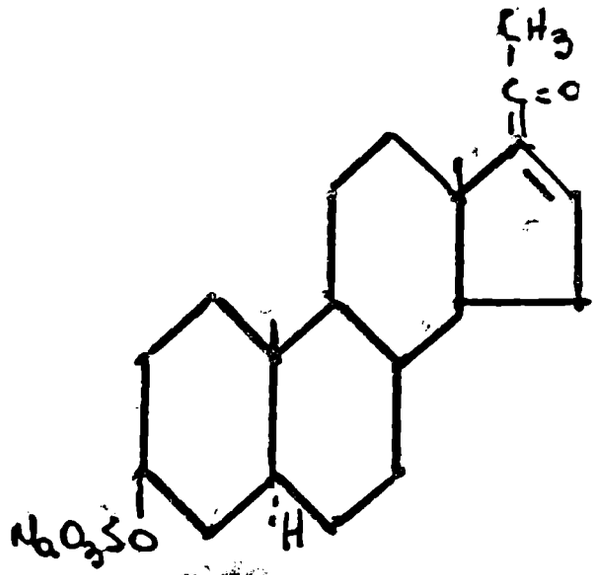
DEHIDROISOANDROSTERONA,
SULFATO DE SODIO



URAMEDIOL,
SULFATO DE SODIO



ALLOPREGNANOL-3 β ONA-20,
SULFATO DE SODIO



Δ^{16}-ALLOPREGNAROL-
3 β-ONA-20-
SULFATO DE SODIO

análogamente en los monos ovariectomizados. Según este autor es posible que los corticoides, puedan ser transformados en 17-cetog esteroides por degradación oxidativa de la cadena lateral.

Hamburger (1952) señala que cuando se administra propionato de testosterona, se observa un aumento en la excreción urinaria de substancias androgénicas y 17-cetoesteroi- - des. La cantidad de propionato de testosterona recobrada como - 17-cetoesteroides después de una inyección intramuscular, varía individualmente desde algún. p. hasta más del 70 %.

Rubin, Forman y Miller (1952), administran - 1200 mg de propionato de testosterona a tres pacientes afectados de obstrucción biliar pero con funcionamiento normal. La bilis recogida del conducto biliar, no ofreció ningún aumento en - la excreción biliar de 17-cetoesteroides. Sí, se observó un aumento en la excreción urinaria, lo que prueba la absorción de propionato de testosterona administrado.

Romani (1952) dice que se excretan normalmente de 2.2 a 5.0 mg/24 h. de dehidroisoandrosterona. Dicho cifra constituye un 15 a 26 % del total de 17-cetoesteroides excretados. Por estimulación corticosdrenal con ACTH, la excreción de dehidroisoandrosterona aumentó de 8 a 22 mg/24 h., lo que tuye un 30 % del total de 17-cetoesteroides.

Salmon y Sobrino (1953) hacen mención al hallazgo de un potente andrógeno corticosdrenal, el Δ^5-Androsteno, 11(β) hidroxi, 3, 17-diona. ..se hallazgo se verificó en la orina de un paciente tratado con grandes cantidades de ACTH.

Bovard, Burstein, Rosenkrantz y Forman (1953), en un paciente afectado de artritis reumatoidea, administran 100 mg de Adrenosterona por día, lo que provoca la aparición en la - orina de 11-β-hidroxiandrosterona; 11-cetoandrosterona; Etiocolanano-3α; 11-β- diol-17 ona y Etiocolanona 3α, 11, 17 diona. Se -

empleó en este estudio la cromatografía en papel lo que permitió el aislamiento e identificación de cada uno de estos 17-cetoesteroides urinarios.

Popko (1953), utiliza metil testosterona radioactiva, con un átomo de C 14, en el metilo del C-17; estudia el metabolismo de dicha substancia en 462 ratas. Encontrando que la hipófisis y la corteza adrenal, retienen metil-testosterona, en cantidades que dependen de las dosis administradas. El autor comprobó que parte de la metil testosterona fué demetilada.

Finotti (1955), estima la excreción urinaria de 17-cetoesteroides en un grupo de 18 mujeres entre los 25 y 51 años. Comprueba que la castración trae aparejada un descenso de la actividad de la corteza adrenal, demostrable por el descenso en la excreción de los 17-cetoesteroides urinarios. La administración de gonadotropina folículoestimulante o luteinizante hace en la mujer castrada un aumento en la excreción de estos metabolitos urinarios, que es en algunos casos considerable.

Joyle, Huis in't Veld, Soulieu y Crepy (1955), administraron a dos sujetos sanos Epiandrosterona (Androstano-3 (β)-ol--17 ona) por boca, tres veces por día. De la cantidad administrada el 15 a 23 % fué encontrado en la orina, en forma de 17-cetoesteroide neutro. La mayor excreción de epiandrosterona, no fué metabolizada como tal, sino como Androsterona.

La Epiandrosterona se excretó al estado sulfato. La androsterona como glucuronidato. Según estos autores, el sulfato de epiandrosterona, no se hidroliza por el método de Talbot sino por acción de los jugos digestivos del Helix pomatia. Estos autores presentan la tesis deque las 3α-esteroides son conjugados en el hígado, como ácido glucurónico y los 3β esteroides como ácido sulfúrico.

Botic, Lemon, Marcus y Savard (1957) verifican estudios sobre los 17-cetoesteroides conjugados de la orina huma-

na, encontrando que la incubación con β glucuronidasa, libera de la orina, solamente una fracción de las cifras totales presentes, de Androsterona, 11-cetoandrosterona, 11(β) hidroxiandrosterona, la etiocolanolona, la 11-cetoetiocolanolona y la 11(β) hidroxi-etiocolanolona. Se observa un significativo aumento en el desprendimiento, de los derivados de la etiocolanolona, mas que de los de la androsterona, por acción del tratamiento enzimático.

<u>17-Cetoesteroides excretados en distintos estados fisiológicos de la mujer</u>

La <u>diuresis</u> no parece tener mayor influencia en la excreción de estos compuestos. Aunque algunos autores como Lenford y Lenford (1951) han encontrado una correlación entre el volumen urinario y la excreción de 17-cetoesteroides. La experiencia fué realizada en 8 conejos, a los que se les administró por un tubo, directamente al estómago, 3 ml de agua por cada 100 g de peso, 1 veces por día, durante dos días. El volumen urinario aumentó de 400 ml a 677 ml y la excreción de 17-cetoesteroides de 4,5 a 7,8 mg en cuarenta y ocho horas.

Zegennes y Beltour (1951), encuentran, por el contrario, que en los individuos normales, las cifras de 17-cetoesteroides eliminadas en las 24 horas, son constantes entre límites de ± 20 %, independientemente de las cantidades de agua evacuadas en la orina.

Analogamente Appel (1952); Wilkins y Carlson (1952) hacen notar que la excreción diaria de 17-cetoesteroides es independiente de la cantidad de orina. En lo que respecta a los corticoesteroides Appel encuentra que su excreción diaria es más alta a mayor volumen urinario, señalando también que la fracción de corticoesteroides soluble en éter de petróleo, aumenta más que la fracción soluble en agua.

Hamburger (1954) verifica la determinación de - la cetoesteroidemia para un mismo sujeto de 44 a 50 años de - - edad, durante 6 años, encontrando que los datos obtenidos con - independientes del volumen urinario. Los valores excretados fueron de un promedio de 11.03 mg/24 h. Con límites entre 9.0 y - 16.4 mg/24 h. La excreción disminuyó 1 mg en el curso de 6 años. A pesar de que la excreción urinaria varió de 600 a 2540 ml la cifra de 17-cetoesteroides fué marcadamente constante en los diferentes grupos de orinas clasificadas de acuerdo al volumen, siguiente se observó una ligera diferencia entre el grupo de volumenes bajos y el de los volumenes altos. Se encontró también un ciclo anual en la excreción. Siendo más alta en septiembre (12.21 mg) y más baja en mayo (11.51 mg). A estas variaciones no se les asignó valor práctico.

En lo atingente a la <u>Variación diurna y nocturna</u>, es muy probable que exista para los 17-cetoesteroides urinarios. Aunque como señalan Pincus, Romanoff y Carlo (1940) esa variación, se compondría, al verificar las determinaciones en muestras correspondientes a orina de 24 horas.

Según Koch (1937) hay una marcada fluctuación - en la excreción diaria de andrógenos y estrógenos en el hombre y mujer normal.

Sandberg y col. (1953) comprobaron que la excreción de 17-hidroxicorticoesteroides y de 17-cetoesteroides es máxima por la mañana y mínima al atardecer.

Si Rolando y Forchan (1956) hacen notar que si bien los valores plasmáticos y la eliminación urinaria de los - 17-hidroxicorticoides es máxima entre las ocho y las diez de la mañana y mínima entre las cero y las dos de la madrugada. Los estudios sobre el tiempo de eliminación han revelado que la corteza adrenal secreta el 70 % del cortisol diario, entre medianoche

y las nueve de la mañana. Este ritmo sería relativamente independiente del horario de sueño, condiciones de iluminación e ingestión de alimentos, siendo influído en cambio por factores emocionales que actuarían sobre el sistema nervioso central y la secreción de corticotropina. En la misma forma actuarían las emociones y las sensaciones dolorosas.

De acuerdo a Kolye (1946) la variación diaria observada en la excreción de los distintos corticoesteroides podría ser atribuída a la adaptación corticosuprarenal a los distintos "stress" impuestos por la actividad diurna y nocturna.

Con respecto al ciclo menstrual si bien Fernor (1941) encontró que la excreción urinaria de gonadotropinas, estrógenos y 17-cetoesteroides en 5 mujeres normales, está aumentada en la mitad del ciclo menstrual, estos hallazgos no han podido ser confirmados en lo referente a los 17-cetoesteroides por otros autores. Venning y Kennan (1946), Koetz (1949); Huis in't Veld y Hingsmans (1952), encuentran por el contrario una constancia en la excreción de 17-cetoesteroides, independientemente del día del ciclo, en que se verificó la determinación. Ello parecería deberse a una falta de respuesta corticosuprarenal al estímulo ovárico.

Kuppas y Gallagher (1955) encuentran que los 17-cetoesteroides totales y fracciones individuales fueron esencialmente constantes, durante períodos sucesivos del ciclo menstrual en dos mujeres normales.

Se ha observado también una constancia en las cifras de excreción para cada individuo (Kobrinor, 1953).

La altura, peso y superficie corporal no tienen influencia en la excreción de 17-cetoesteroides (Sprecher, 1951). Aunque a veces se observan variaciones entre un 20 y un 30 % en los datos hallados, para un mismo individuo, bastarían -

dos determinaciones en una misma persona para conocer la cifra - real aproximada para dicho individuo (Werner, 1941).

La edad y el sexo constituyen factores de variación, en los valores hallados de 17-cetosteroides.

Kochakian (1937) refiriéndose a la excreción - urinaria de andrógenos, consigna que en un hombre joven, se excretan de 6 a 8 unidades ratón de hormona androgénica por litro. La orina de los eunucos, contiene 1 unidad ratón por litro.

Rathmann, Torno y Hub (1939) encuentra que la excreción de andrógenos en niños, es levemente mas alta que en - las niñas de la misma edad y tamaño.

Charles (1941) asgrega que la menopausia de la mujer, la cifra término medio de excreción de andrógenos se halla elevada, sobre la normal de 3,4 a 5,4 mg/24 horas.

Heck, Loer y Rumbreen (1947) establecen las cifras de 10 mg/24 horas como la correspondiente a los 17-cetoesteroides urinarios excretados por una mujer normal entre los 20 y los 40 años de edad.

Salye (1949) hace notar que en la edad inferior a los 6 años, se encuentran cifras bajas de andrógenos y de 17-cetosteroides en la orina. En la pubertad las cifras aumentan, mas en el hombre que en la mujer. En la mujer adulta normal los valores son alrededor de 7 a 12 mg/24 horas, promedio 9.5 mg/24 horas. En los eunucos la excreción urinaria de andrógenos y de 17-cetoesteroides disminuye con la edad. A los 60-70 años generalmente se excretan solamente 1/3 a 1/10 de los datos normales.

Kendall (1950) resume los datos hallados de 17-cetosteroides neutros en la orina humana de sujetos normales. Según es e autor, antes de la edad de 7 años, se excretan cantidades pequeñas de 17-cetosteroides. Desde ahí hasta la pubertad, la excreción aumenta gradualmente hasta llegar a las cifras

del adulto: 5 a 17 mg/24 horas en la mujer y 6 a 29/mg/24 horas para el hombre. La excreción diaria normal usualmente varía en - menos de un 15 % para el mismo sujeto. Bajo circunstancias normales el 95 % de la excreción total, consiste en los isómeros α y solamente un 5 % son isómeros β.

Cantillo (1950) expresa que la mujer adulta excreta normalmente los dos terceras partes de la cantidad de los 17-cetoesteroides hallada habitualmente en la orina del varón. - Esto a su vez y en la edad adulta, elimina normalmente, la mitad de la cantidad de fenolesteroides hallada habitualmente en la - orina de mujer.

El autor resume esta excreción en la siguiente forma:

Esteroides de procedencia Corticosuprarenal

En el Varón

$$\frac{\text{Tasa de 17-Cetoesteroides} \times 2}{3}$$

Tasa total de los Fenolesteroides

Tasa total de los Corticoesteroides

En la Mujer

$$\frac{\text{Tasa de los Fenolesteroides}}{2}$$

Tasa total de los 17-Cetoesteroides

Tasa total de los Corticoesteroides

Esteroides de Procedencia Gonadal

En el Varón (Testicular)

$$\frac{\text{Tasa de 17-Cetoesteroides}}{3}$$

En la Mujer (Ovárica)

$$\frac{\text{Tasa de los Fenolesteroides}}{2}$$

El autor hace notar, que llama la atención que la mujer elimina andrógenos en la proporción de dos terceras partes de la cantidad eliminada por el varón, mientras que este úl-

tico solo elimina estrógenos en proporción de una mitad de la - cantidad eliminada por la mujer; pero si a los esteroides estrógenos, se les añade los esteroides progestacionales, que también son femeninos, eliminados en forma de pregnandiol y se recuerda que el varón los elimina normalmente en cantidad pequeña pero - no despreciable, se concluye que tanto para el varón como para - la mujer, las hormonas sexuales proceden en sus dos terceras partes o la corteza adrenal y sólo en una tercera parte, tienen su origen en la gonada correspondiente. Así se explica que entre los 8 y los 16 años de edad, la tasa de excreción de los 17-cetoesteroides sea bastante similar en ambos sexos. Es evidente que solo después de lograda la plenitud sexual, puede hacerse visible la disparidad de valores propia de los dos sexos.

Schwenk y Schwenk (1952), estudian la eliminación de 17-cetoesteroides en jóvenes de ambos sexos durante la - pubertad y su dependencia con el grado de desarrollo. Las determinaciones se verificaron en 90 muchachos sanos entre los 11 y - los 19 años, encontrando que en los de desarrollo precoz, había una eliminación más elevada que en los de desarrollo normal o - lento. Las jóvenes fueron 30, entre los 11½ y 14½ años de edad encontrando cifras altas en las jóvenes de desarrollo precoz. - Los valores altos se encontraron en jóvenes de aspecto viriloides, mientras que los valores bajos fueron hallados en tipos femeninos. En los desarrollos tardíos o normales, la eliminación es comparable con la de los jóvenes de sexo masculino.

Hulo in't Veld y Bingemanse (1952) estudian la excreción de 17-cetoesteroides en 46 mujeres normales entre los 3 y los 63 años de edad. Se encontraron niveles uniformes de excreción, entre los 20 y los 35 años. Con la androsterona y la - etiocolanolona se produjo un aumento desde el comienzo de la pubertad, seguido por una disminución en la menopausia. En las mu-

jeres castradas comprobaron que la excreción de 17-cetoesteroides β, es relativamente alta, mientras que la excreción de androsterona y etiocolanolona era baja.

Benfilippo (1952); Magliocca y Natoli (1954); encuentran que los 17-cetoesteroides son más bajos en las mujeres que en los hombres. Según Sanfilippo aparecen en la pubertad, aumentan durante el período de actividad sexual y disminuyen en la senectud. La actividad androgénica de las adrenales, según este autor, es independiente de la actividad ovárica, en contraste a lo que ocurre en el hombre, en donde la actividad androgénica corticoadrenal esta íntimamente vinculada a la función testicular.

Ströder y col. (1952), estudiando la excreción de 17-cetoesteroides en los primeros años de vida, encuentran, que en el nacimiento la cifra es de 1 mg/24 horas, cifra que decrece a 0.5 mg/24 horas durante el primer mes de vida y aumenta gradualmente hasta 7.5 mg/24 horas a la edad de 15 años.

Valores más o menos comparativos encuentra Breant (1952), en la infancia. Según este autor los recién nacidos excretarían 1.175 mg/24 horas a 1.500 mg/24 horas. Hacia el noveno día de vida este valor baja a 0.75 mg/24 horas. Al año el dato está alrededor de 1 mg/24 horas y a los 5 años, 2 mg/24 horas. A los 8 años: 3 mg/24 horas y a los 11 años el valor sería de 5 mg/24 horas.

Ferraris (1952), verifica determinaciones de 17-cetoesteroides en 214 mujeres de disintas edades en condiciones fisiológicas:

Años	17-Cetoesteroides urinarios mg/24 horas
5 a 9	3.73
10 a 14	6.90
15 a 19	8.13
20 a 24	10.50
25 a 29	11.22
30 a 34	10.85
35 a 39	10.92
40 a 44	10.86
45 a 49	10.03
50 a 54	9.82
55 a 59	8.48
60 a 64	7.41
65 a 69	6.03
70 a 74	5.04
75 a 79	4.84
80 a 84	4.86

Abelin y Pfister (1956), encuentran que en los seres humanos, la excreción urinaria máxima, de los 17-cetoesteroides es alrededor de los 25 años, comprueban también que la administración de glucosa y de carne, causa en algunos casos, un aumento en la excreción de 17-cetoesteroides. No teniendo influencia la administración de grasas o de agua.

Würterle (1953) establede diferencias en la cetoesteroidurea de la mujer con menstruación normal y en aquella cercana a la menopausia. El mismo autor en 1956, publica un trabajo, donde mide la excreción de 17-cetoesteroides en 138 mujeres normales entre los 20 y los 80 años. Encuentra que dicha excreción marca una relación directa entre la edad y la función ovárica. La cifra de 17-cetoesteroides excretada después de la menopausia es de 5.72 mg/24 horas, es decir cerca de 3.73 mg/24 horas inferior a los datos hallados antes de dicho estado.

Zeisel, Pressler y Engel (1953) verifican determinaciones de esteroides en la infancia. En lo que respecta a -

los 17-cetoesteroides, encuentra que la excreción en el recién - nacido es de 1.2 mg/24 horas. Cayendo a 0.5 mg/24 horas hacia el final del primer mes, manteniéndose más o menos constante alrededor de este valor hasta el final del primer año de vida. De 2 a 4 años, la excreción fué de 1 mg/24 horas. De 5 a 6 años, alrededor de 2 mg/24 horas, se produce luego un rápido ascenso hasta - llegar a un máximo de 7.5 mg/24 horas a la edad de 13 a 15 años. En el grupo de niños mayores, los niños que han llegado a la pubertad, excretan más esteroides que los muchachos de la misma - edad.

Zeisel (1953) estudia la excreción de esteroides en niños prematuros, encontrando que los valores de 17-cetoesteroides urinarios, en prematuros de 1000 a 2500 g, no son diferentes de los de niños a término. Verifica también una marcada disminución en la cetoesteroiduria de prematuros comprendidos entre los 1000 y 1700 g de peso.

Pasqualini (1953) dice que en la mujer, los 17-cetoesteroides se originan principalmente en la corteza adrenal, existiendo en pequeñísima cantidad en la infancia, pero cuentan ya a partir de los 8 años, lo cual significa que también para la adrenal, hay una maduración puberal, que se ha denominado adrenarquia.

Bongiovanni y Eberlein (1957) observan que el clearance renal, es mucho más alto, para la androsterona, que para - la dehidroepiandrosterona.

17-Cetoesteroides excretados durante la gestación.

La actividad corticosuprarenal durante el embarazo, experimenta un manifiesto aumento, cuyo significado fisiológico, no ha podido ser claramente establecido todavía. Se exterioriza en modificaciones de la excreción de 11-oxiesteroides y de 17-cetoesteroides. Los primeros aumentan paulatinamente desde el

comienzo y alcanzan un primer pico al término del tercer mes. A continuación descienden hasta el comienzo del quinto mes; en el curso de éste, aumentan rápidamente, alcanzándose la excreción máxima en el séptimo mes, a partir del cual comienzan a descender hasta el comienzo del parto.

Los 17-cetoesteroides urinarios sufren no solo modificaciones cuantitativas, sino también cualitativas. La excreción total está aumentada pero no en la misma proporción que fuera del embarazo. Aparecen dos cetoesteroides que no se excretan fuera de la gravidez (pregnanolona y alopregnanolona) al mismo tiempo que disminuyen o desaparecen otros normalmente presentes como androsterona, etiocolanolona e hidroxiandrosterona (Pasqualini, 1951).

Gómez Maestro (1952), determina la cetoesteroiduria en 7 embarazos, en el 8º mes de gestación, obteniendo valores entre 5.133 y 18.06 mg/24 horas, con una media de 11.702 mg/24 horas. Este valor, representa 2 veces la cifra normal en ausencia de embarazo. Pareciera ser que ese aumento en la excreción de 17-cetoesteroides es correlativo al aumento de excreción de gonadotropina coriónica. Las enfermas examinadas fueron primíparas y multíparas de 26 a 29 años de edad.

Hegnauer (1952), verifica determinaciones de 17-cetoesteroides urinarios en 43 embarazos normales, durante meses sucesivos, con un total de 181 determinaciones. Los valores medios diarios estuvieron entre los 8 y los 10 mg/24 horas, con un ligero aumento 8 a 10 días antes del parto. El período inmediato al post parturm, se eliminan pequeñas cantidades de esteroides. La conclusión a que llega el autor, es que no hay diferencias siginificativas en la excreción de 17-cetoesteroides entre la mujer normal y la embarazada.

En las toxemias del embarazo e hiperemesis gra-

vídica, se a ta un considerable descenso en los 17-cetoesteroides urinarios.

Iruga (1952), Courrier (1953) y Maqgiplnto - - (1955), establecen que en el curso del embarazo la adrenal sufre cambios anatómicos y fisiológicos, que indican hiperactividad. - La excreción de esteroides urinarios aumenta desde los primeros meses de embarazo. En el 9º mes, no encuentran los cifras mas altas. Durante el trabajo del parto y el alumbramiento la excre- - ción aumenta aún más, pero se reduce luego a sus valores normales en los primeros días del puerperio. Se supone que gran parte de los corticoesteroides excretados se deben a alteraciones metabólicas de la progesterona placentaria. Según Courrier, la adrenal puede transformar progesterona en corticosterona o en 17-hidroxicorticosterona. También puede transformar pregnenolona en - progesterona, esta última posibilidad constituye una fase intermedia en la síntesis de los corticoesteroides a expensas del colesterol. Según el autor la progesterona, puede parcialmente - reemplazar a la secreción adrenal, en ausencia de ésta. Así se - explica que la preñez pueda extender el tiempo de sobrevida de - los animales adrenalectomizados.

Cornbleet (1952), consigna que la androsterona y la etiocolanolona son los 17-cetoesteroides urinarios excretados en mayor proporción por la mujer normal. Durante la primera par-e del embarazo, las cifras son iguales, pero alrededor del - 8º mes la androsterona ha desaparecido casi totalmente, mientras que la etiocolanolona se ha reducido grandemente.

Gardner y col. (1954), verifican determinaciones de los 17-cetoesteroides plasmáticos en mujeres embarazadas, encontrando valores significativamente mas bajos que en las mujeres normales y que en los hombres tomados como control. Los valores medios en el embarazo fueron 18 μg/100 ml contra 61 μg/100 -

ml hallados en los controles.

Huis in't Veld (1954) señala que la excreción - de substancias androgénicas en el curso del embarazo, disminuye más que aumenta. Las determinaciones se verificaron por medio - del dosaje biológico de la cresta de gallo en orinas de mujer en cinta de 6 a 8 meses, las que contenían de 8 a 30 u.i. por litro, mientras que las orinas de mujeres libres de embarazo, contenían de 30 a 60 u.i./litro.

En cuanto a los 17-cetoesteroides urinarios el autor consigna, que su excreción global no difiere sensiblemente entre el estado normal y el de embarazo. Según Huis in't Veld, - lo anterior ha sido confirmado por otros autores como: Venning, 1946; Collard y Heusghem, 1949; Nuyens, 1950; Regueiro Castro, Santos Ruiz y Lucas Gallego, 1950; Vialey y Ravazzioni, 1950; Wehrs, 1951; Chart, Shipley y Gordon, 1951; Bourgarel y Ferranti, 1952; Heynauer, 1952 y Charvet, 1952.

Consigna también que cuando se hacen las determinaciones aplicando el método colorimétrico de Zimmerman, se encuentran cifras mas altas de excreción en los últimos meses de - embarazo que en los primeros. Estos valores más altos no se registran si se usa el método colorimétrico de Pincus.

En lo que respecta a los embarazos patológicos ocurre lo siguiente:

Hiperemesis gravídica: disminuidos.

Toxicosis de embarazo: normal o disminuido.

Eclampsia: disminuidos

Diabetes: disminuidos

Adissonianas: en los últimos meses, cetoesteroidurea normal. Después del parto baja a cifras habituales.

Hirsutismo: aumentados.

Anemia Macrocítica: disminuídos

Muerte fetal en útero: disminuidos

Factor Rh (-): normales.

Después de alumbramientos anormales la caída en la excreción de los 17-cetoesteroides después del parto, no se produjo. Constatándose en un caso aumento, en lugar de caída. Se supone que esto se ha debido a una reacción de alarma.

Cuadro V

Excreción de 17-cetoesteroides urinarios en el curso del embarazo normal.

SEMANAS DE EMBARAZO (Calculadas a partir de una semana después del comienzo de la última menstruación).	Nº DE CASOS EXAMINADOS	17-CETOESTEROIDES mg/24 h (calculadas en mg de dehidroepiandrosterona) LIMITES	MEDIAS
1 - 4	1	11.1	-
5 - 8	10	8.6 - 17.8	14.8
9 - 12	11	5.2 - 16.7	12.3
13 - 16	12	5.5 - 18.2	10.0
17 - 20	22	5.1 - 24.6	11.4
21 - 24	19	5.8 - 18.2	11.4
25 - 28	16	6.1 - 17.0	12.3
29 - 32	16	5.8 - 22.3	12.7
33 - 36	18	6.6 - 20.6	13.0
37 - 40 a 41	12	4.9 - 22.6	14.2
MUJERES NORMAEES NO EMBARAZADAS	26	4.8 - 17.4	10.4

En el cuadro nº V figuran los 17-cetoesteroides excretados en el curso del embarazo normal.

En el cuadro nº VI los 17-cetoesteroides, en dosajes fraccionados por cromatografía de acuerdo a Dingenanse y col. (1952). Los valores se expresan en mg de Dehidroepiandrosterona. Es necesario tener en cuenta que en los extractos urinarios de embarazadas existen derivados del pregnano que reaccionan con el reactivo de Zimmerman, formando un color rojo. La absorción máxima de este color se halla alrededor de los 500 mμ. Por unidad de peso, el color es aproximadamente un décimo del de los 17-cetoesteroides. Ellos tienen una estimación máxima a los 520 mμ. En la orina de embarazadas pueden encontrarse los derivados siguientes del pregnano que reaccionan con el metadimitrobenzeno

Allo-pregnanodiona 3,20	Lieberman, Dobriner, Hill, Fieser y Rhoads.
Allo-pregnanol-3(α)-ona-20	Marker y Kamm
Allo-pregnanol-3(β)-ona-20	Marker, Kamm y Mc Grew
Pregnanol-3(β)-ona-20	Pearlman, Pincus y Werthessen
Allo-pregnanodiol-3(α)-6(α)-ona-20	Lieberman, Fukushima y Dobriner
Pregnañodiol-3(α)-6(α)-ona-20	

Lieberman y col. (1948), ha aislado de la orina de mujeres embarazadas la 17-iso-pregnanol-3(α)-ona-20. Esta substancia es un artefacto, formado por la influencia del alcali sobre los extractos urinarios. Se puede llegar a la conclusión de que en el análisis cromatográfico de los extractos urinarios de mujeres embarazadas con el método de Dingemanse, los derivados del pregnano, se eluyen sobre todo en las fracciones III y VIII, mientras que las fracciones IV, V, VI a + VI b, no contiene derivados del pregnano. En cuanto a la composición de otras -

CUADRO VI

EXCRECION DE 17-CET ESTE-OIDES EN EL PUJUR EMB RAZADA

(DOSAJE FRACCIONADO)

NUMERO DE SEMANAS		4-8		9-12		13-16		17-20		21-24		25-28		29-32		33-36		37-40		Mujeres no Embarazadas	
Nº DE CASOS		3		4		6		9		9		6		8		8		3		26	
FRACCION	I	1.7 2.2	1.9	0.7 1.6	1.0	0.3 1.3	0.8	0.1 1.3	0.8	0.2 2.4	1.0	0.0 2.8	1.4	0.0 1.6	0.8	0.2 1.9	1.0	0.7 1.7	1.1	0.0 3.0	0.9
FRACCION	II b	0.0 1.8	0.8	0.1 1.0	0.5	0.1 1.1	0.5	0.0 1.0	0.3	0.0 1.4	0.4	0.0 0.6	1.2	0.0 0.6	0.2	0.0 0.5	0.2	0.0 0.9	0.4	0.0 0.0	
FRACCION	II a	1.0 1.6	0.5	0.0 1.2	0.5	0.0 0.5	0.1	0.0 1.6	0.2	0.0 0.7	0.1	0.0 0.3	0.1	0.1		0.0		0.0			-
FRACCION	III	3.5 4.3	4.0	2.5 5.6	4.0	0.8 5.0	2.6	1.3 4.5	2.6	2.6 7.0	3.7	2.1 6.9		2.0 4.6		2.5 6.8	3.9	2.7 4.3	3.2	0.5 4.2	1.6
FRACCION	IV	1.6 4.2	2.6	2.0 4.6	2.6	0.8 3.8	2.2	0.6 5.0	2.1	0.0 2.9	1.3	0.3 2.1		1.0 4.8	2.4	0.1 4.0	2.1	1.3 3.6	2.8	0.6 4.9	2.7
FRACCION	V	2.5 3.2	2.9	1.3 3.7	2.5	1.3 2.0	1.7	0.4 2.0	1.3	0.0 2.1	1.0	0.5 6.9	2.3	1.6 2.8	1.6	0.1 2.2	1.1	1.0 3.1	1.6	1.0 6.4	2.4
FRACCION	VIa + b	0.5 3.9	2.3	0.5 1.9	1.4	0.4 2.4	1.2	0.1 6.3	1.7	0.7 4.4	1.8	0.8 7.1	4.1	1.0 0.5	3.4	1.8 4.7	3.4	1.5 4.4	3.4	0.5 2.5	1.0
FRACCION	VII	0.0 0.3	0.1	0.0 0.1	0.0	0.0 0.2	0.1	0.0 0.4	0.2	0.0 0.3	0.1	0.0 0.4	0.1	0.0 0.4	0.1	0.0 0.9	0.1	0.0 0.5	0.2	0.0 0.3	0.0
FRACCION	VIII	0.1 0.8	0.5	0.2 0.4	0.3	0.1 0.7	0.4	0.1 0.9	0.4	0.1 1.3	0.5	0.1 1.4	0.8	0.0 1.4	0.8	1.0 1.8	1.4	1.0 1.7	1.4	0.1 1.1	0.5

Todos los tenores son expresados en mg de Pehidrocolisdroesterona

fracciones (I, IIb, IIc) no está todavía bien dilucidada. El tenor de la fracción VII es mínima en la orina de embarazada. En resumen, la composición, de las diferentes fracciones de cetoesteroides en la orina de embarazada es la siguiente:

I - 17-cetocsteroides no alcohólicos (+?).

II b, II c } - desconocidos

III b - 17-cetoesteroides (dehidroepiandrosterona, epiandrosterona) pregnanolona.

IV - androsterona

V - etiocolanolona

VI (a) II - isoetiocolanolona

(b) II - hidroisoandrosterona

VII - II - hidroetiocolanolona

VIII - derivados del pregnano, probablemente los pregnandiolona.

Como fuentes posibles de los 17-cetoesteroides en las mujeres embarazadas, se puede pensar en:

1°) Corteza adrenal de la madre.

2°) Placenta

3°) Ovarios de la madre.

4°) Corteza adrenal del feto

5°) Gonadas fetales.

La conclusión a que llegó Huis in't Veld es que 1, 2, 3, son las fuentes probables de los 17-cetoesteroides urinarios en la embarazada. Mientras que 4 y 5 no juegan ningún rol en este aspecto.

Según Jayle y Crepy (1954) la placenta desde el punto de vista endocrinológico, aparece como una voluminosa glándula de secreción interna, que asocia las propiedades biológicas, gonadotrópicas y antilactogénicas de la hipófisis anterior y de -

las del cuerpo lúteo (ver Cuadro VII).

De acuerdo a los autores, no se puede deducir, así rápidamente que la presencia de trazas de corticoides en la placenta, establezca que dicha glándula posea una actividad análoga a la de la córticoadrenal. Lo cierto es, que la glándula - adrenal perfundida con progesterona, convierte esta hormona, en compuesto E y F y es lógico pensar, junto con Hechter, Zaffaroni y Pincus, que la elvación de la tasa de corticoides en la sangre y las orinas de mujeres en cinta, proviene de la transformación - secundaria de los luteoides placentarios en la corteza adrenal de la madre.

Botella Llusiá y col. (1955), determinan el - - pregnanodiol y los 17-cetoesteroides en 13 pacientes, antes y después de la administración de una dosis única de 100 mg de propionato de testosterona.

En el primer grupo constituído por 5 mujeres sanas en el 8° mes de embarazo, la excreción de pregnanodiol, aumentó ligeramente, mientras que los 17-cetoesteroides totales aumentaron casi en un 100 %.

En el segundo grupo, que consistía en 4 mujeres castradas quirúrgicamente, la administración de 100 mg de propionato de testosterona, no provocó aumento de pregnanodiol, pero el - total de 17-cetoesteroides fué marcadamente alto.

En el tercer grupo constituído por 4 mujeres sanas en la 2a. mitad del ciclo, todas respondieron con un aumento en la excreción de pregnanodiol (variando de 50 a 90 %). En este grupo los 17-cetoesteroides también aumentaron, pero no como en - las mujeres castradas. Estos hallazgos arrojan luz sobre las etapas intermedias del proceso de transformación andrógenos-progesterona. Los autores aseguran que este proceso es una función especí

CUADRO VII

ESTEROIDES AISLADOS DE LA PLACENTA.

NATURALEZA	CANTIDADES x Kg de Placenta	AUTORES	AÑO
ESTROGENOS			
ESTRONA	30 μ g.	BIRCHEL	1950
ESTRADIOL	10 μ g.		
ESTRIOL	100 μ g.		
ESTRONA	49 μ g.	DIGI FAMILY	1953
ESTRADIOL	4.6 μ g.		
ESTRIOL	157 μ g.		
PROGESTERONA	1500 μ g.	PEARLMAN y col	1952
PROGESTERONA	1600 μ g.	HOAGLAND y col.	1952-3
ALLO-PREGNANO-3(α)ol-20 ona			
PREGNANO-3(α)-20(α)-diol		PEARLMAN y col	1951
ALLO-PREGNANO-3(β)-20(α)-diol			
11-DEHIDRO-17 HIDROXI		DE COURCY,	
CORTICOSTERONA	Trazas	GRAY y col.	1952
17-HIDROXI-CORTICOSTERONA	Trazas		

cífica del cuerpo lúteo y que no se presenta en la adrenal o en - la placenta. Dicha transformación se haría de testosterona a preg nanediol, directamente o por intermedio de uno de sus catabolitos.

Davis y Plotz (1956) emiten la teoría acerca - del rol que asume la placenta en el metabolismo hormonal, durante el embarazo, con especial referencia a la posible interrelación - entre la disminución de ciertos 17-cetoesteroides excretados y el aumento simultáneo en la excreción de los metabolitos de la progesterona.

Excreción de 17-cetoesteroides y sexo fetal

Desde la antiguedad siempre ha sido motivo de - preocupación por parte de los médicos y del pueblo, poder llegar a predecir el sexo, antes del nacimiento. Muchos han sido los métodos preconizados, aunque en la práctica no han permitido la obtención de datos exactos (Pundel, Van Meensel y Jaworski, 1951)

Burrows, Mc Leod y Warren (1942) han observado diferencias de la tasa de 17-cetoesteroides en las embarazadas - de feto masculino y las de feto femenino. Para las embarazadas feto masculino las cantidades de 17-cetoesteroides excretados en 24 horas, serían de 26,2 mg/litro. Para las embarazadas de feto femenino, de 14.6 mg/litro, solamente.

Hain (1939) estudiando los andrógenos excretados, no pudo establecer relación estadísticamente valorable entre el sexo del niño y la cifra de eliminación urinaria de dichas hormonas. Tales son igualmente las conclusiones de Collard y Heusghem (1949), que no pudieron establecer relación entre la tasa de 17-cetoesteroides y el sexo fetal y las nuestras, como se consigna - en el presente trabajo en las tablas respectivas del capítulo V.

Jaworski y Kowalewski (1950) teniendo en cuenta que los dosajes de 17-cetoesteroides urinarios, no permiten sacar

conclusiones, en lo que respecta a la tasa de eliminación y el sexo fetal, dosan dichas substancias en el líquido amniótico, comprobando que si el feto es macho existe realmente una eliminación de 17-cetoesteroides más grande, que en el caso de feto femenino. Esta producción más elevada podría prevenir del feto mismo. El dosaje fué verificado por los autores en el líquido amniótico en el momento de la ruptura artificial de la membrana o por punción - trans-abdominal, en 24 mujeres. Los autores encontraron 1.50 a - 3.12 mg/litro de 17-cetoesteroides en casos de feto masculino y 0 - 0.94 mg/litro en casos de feto femenino. Esta diferencia se - la atribuye a una producción parcial de las mismas, por el testículo.

Abt y Keller (1954) determinan 17-cetoesteroides y esteroides fenólicos en el líquido amniótico. No encontraron diferencias marcadas entre el sexo y las cifras de 17-cetoesteroides. En lo que respecta a la fracción estrona-estradiol de los esteroides fenólicos, consignan que probablemente sea más alta en los fetos hembras, que en los fetos machos, sin poder sacar conclusiones definitivas.

Siliquini y Ricca (1951), consideran que en el líquido amniótico se encuentran hormonas femeninas, gonadotrópicas coriónicas y que en la formación de ese líquido, también participa el feto. Los autores han buscado hormonas masculinas o sus productos de metabolización. Han podido comprobar la existencia de 17-cetoesteroides, metabolitos urinarios de los andrógenos, en las cavidades amnióticas portadoras de fetos de sexo masculino. Como técnica para recoger el líquido, salvo en unos pocos casos - de rotura espontánea o artificial de las membranas, se utiliza la amniopuntura por vía abdominal, mujer en decúbito dorsal, aguja de punción lumbar, anestesia local con cloruro de etilo. El lugar

do la punción en cuatro dedos por debajo y cuatro dedos por fuera del ombligo, del lado de los miembros fetales, se sacan una vez retirado el mandril 50 cm^3 de líquido. Los autores exponen que no hubo ningún inconveniente ni materno, ni fetal. Para la búsqueda de los 17-cetoesteroides se utilizó el método de Zimmerman. - Aplicado el diagnóstico del sexo, dió resultados en el 97 % de - los casos. Hacen citarse uno de los fracasos, en el que el resultado fué negativo, sin embargo la paciente dió a luz un niño de - sexo masculino, el que tiempo después mostró una ginecofia con hipogenitalismo.

Con esta prueba se demuestra no sólo la actividad hormonal de las glándulas sexuales del feto, sino también que su riñón elimina substancias metabólicas. Hacen el 4° mes de embarazo se encuentren 17-cetoesteroides, lo que sirve de testimonio, de que ya en esa época, poco después de haberse diferenciado las gonadas, hay actividad testicular.

17-Cetoesteroides urinarios excretados en distintas afecciones de la mujer.

Teóricamente afirma Charles (1941) es posible - que los ovarios segreguen andrógenos, ya que esta acción ha sido demostrada en ratones bajo ciertas condiciones experimentales. Por otra parte un tumor ovárico, el arrenoblastoma, segrega andrógenos, como se evidencia por sus efectos masculinizantes y además el tejido de los ovarios normales, contiene células con propiedades andrógénicas potenciales. Algunas pruebas indican que el ovario segrega cierta cantidad de andrógeno, esto es comprobable por que las overiectomizadas y monopédicas, excretan cantidades altas de andrógenos. Estos compuestos según el autor derivan probablemente de la cortaza adrenal en la mujer, sin embargo existen algunas pruebas de que las mujeres con disfunciones ováricas ex-

cretan cantidades anormales de andrógenos. En el hipoovarismo los valores excretados fueron de 7 mg/24 horas y en la menorragia de cerca de 6 mg/24 horas. En las mujeres cuyos senos son dolorosos con cada ciclo menstrual, la excreción diaria de andrógenos alcanzó a 5.1 mg/24 horas. En las mujeres con dismenorrea funcional a 6.6 mg/24 horas. Y en las mujeres con dolores de cabeza menstruales a 5.8 mg/24 horas. Es interesante el hecho de que en administración de estrógenos desciende algo estos valores. En los casos de virilismo sin cambios patológicos groseros, en las adrenales existe muy poco aumento de la excreción de andrógenos. En tales casos la cantidad máxima de andrógenos puede ocasionalmente ser más grande que la normal pero es considerablemente menor que las cantidades observadas en los casos en los cuales está lesionada la corteza adrenal. La excreción de 17-cetoesteroides es muy baja o aun está ausente en los addisonianos, lo mismo que en los casos de insuficiencia del lóbulo anterior de la hipófisis. Se ha demostrado que la mala alimentación o la debilidad de naturaleza no específica, frecuentemente determina una excreción de cantidades sub-normales de 17-cetoesteroides en los siguientes estados:

Enfermedades hepáticas: baja excreción.

Enfermedad de Addison: ausente en mujeres.

Tumor de corteza adrenal: cifras altas.

Enfermedad de Cushing: alto y normal.

(Basofilismohipofisario).

Pubertad precoz: normal

(debida a lesión del hipotálamo).

Insuficiencia hipofisaria: muy baja.

Acromegalia: normal o baja.

Arrenbblastoma del ovario: normal.

Hipotiroidismo: bajo o ausente.

Hipertiroidismo: levemente sub normal.

Ross y col. (1941), determinan la cetoesteroidu-ren en 34 mujeres de 17 a 18 años con sintomatología de hiperactividad adrenal, evidenciada por hirsutismo con moderada o marcada virilización. Las cifras encontradas variaron desde lo normal hasta el 400 % de aumento.

Dingemanse y col. (1948) encuentran en la orina de un paciente afectado de cáncer adrenal, un nuevo esteroide, el Androsten 3(α) ol-17 ona. Comprueban además que tratando este producto con ácido clorhídrico, se obtenían dos productos la dehidroisoandrosterona y una cloro cetona.

Dobriner, Lieberman y Rhoads (1947) analizan orinas de pacientes afectados de cáncer, leucemia linfática, hipertensión y desórdenes adrenocorticales asociados con síndrome de Cushing, encontrando la $\Delta^{9,11}$-Etiocoleno- 3(α) ol, 17 ona. Este compuesto está ausente en la mayoría de los sujetos normales. Los autores consideran que es probablemente un producto de deshidratación de la Etiocolano- 3(α), 11(β) diol- 17 ona.

Kendall (1950) encuentra, que la excreción de 17-cetoesteroides, expresada en miligramos por 24 horas, es en los pacientes afectados de tumores adrenocorticales, siempre elevada y puede alcanzar cifras considerables. La fracción de los 17-cetoesteroides totales, normalmente inferior a un 50 %, está también marcadamente elevada, hasta un 50 % o más. Algo análogo ocurre en los tumores adrenales asociados con signos clínicos de Cushing y un poco de virilismo. Cuando el tumor adrenal está asociado al síndrome de Cushing con masculinización evidente, los 17-cetoesteroides están usualmente pro no invariablemente aumentados y la fracción β está también aumentada.

Cuando las manifestaciones del sindrome de Cushing, se verifican con hiperplasia adrenocortical, mas bien que con tumor , los 17-cetoesteroides son normales o solamente -

discretamente elevados y la fracción β es generalmente normal. En presencia de hiperplasia adrenocortical asociada á virilismo prepuberal o pseudo hermafroditismo la excreción de 17-cetoesteroides está regularmente elevada, pero en un grado intermedio entre los niveles encontrados en la hiperplasia y enfermedad de Cushing y los tumores adrenocorticales. La fracción β está del mismo modo - ligeramente elevada, pero en un menor grado que en los tumores - adrenocorticales. Kendall verificó también determinaciones en un grupo de mujeres afectadas de virilismo post-puberal, no asociado a tumor adrenal, encontrando, que la excreción de 17-cetoesteroides fué normal o ligeramente elevada.

En casos de virilización por tumores ováricos, clasificados como arrenoblastomas, la excreción de 17-cetoesteroides fué variable. Algunos casos arrojaron cifras normales, otros dieron datos elevado de 40 a 158 mg/24 horas.

En el hirsutismo idiopático, Koets encuentra una variación cíclica en la excreción urinaria de 17-cetoesteroides. La mayor excreción se produce en el momento de la ovulación, y la menor durante el flujo menstrual. Esa variación no se observó en la mujer normal.

Dorfman y Miller (1950) aislan 13 metabolitos esteroidales en un paciente con probable hiperplasia adrenal. En orden de valores decrecientes estos metabolitos fueron los siguientes: Androstano 3(α), 11(β) diol-17 ona; Pregnanotriol 3(α),17,20; Pregnandiol-3(α) 20(α); (?) 17(α)-metil-D-homoetiocolano-diol-3(α), 17(α)-ona; Androsterona; Etiocolanol-3(α)-17 ona; Δ^9-Androstenol-3(α)-17 ona; 3 Cl.Δ^5-Androsterona-17; Δ^5-pregneno-diol-3(β), 20 (α); dehidroisoandrosterona; Etiocolanodiol-3(α), 17(α); Allo-pregnano-diol-3(α),20(α) y pregnanodio-3(α), 17 ona- 20. Las cifras de las substancias halladas van desde 10 mg a 0.01 mg por -

FACULTAD DE ... Y FARMACIA * BIBLIOTECA *

litro.

Rivoire, Jonnesco y Paszkowski (1950) dosan 17-cetoesteroides en la orina de 85 enfermos atacados de tuberculosis pulmonar de gravedad variable. En todas las formas graves de enfermedad, la excreción urinaria de 17-cetoesteroides está fuertemente disminuida, volviéndose casi nula en las formas caquecticas. El valor pronóstico de este dosaje es descutible.

Rambert (1950), separa con digitonina los 17-cetoesteroides α de los β. En los sujetos normales, los derivados - β, representan según los autores menos del 10 al 20 % de la cifra total y están constituídos esencialmente por la dehidroisoandrosterona, este esteroide no sería un producto terminal, el organismo no podría transformarlo mas que una determinada proporción - - cuando existe hiperproducción y el pasaje a las orinas sería considerable. Según el autor en las orinas de sujetos atacados de - cáncer pueden aparecer otros esteroides, la Etiocolanona y el - - Pregnanetriol, a los cuales se les ha atribuido un valor específico, pero que en realidad pueden ser excretados en las hiperplasias.

En los tumores de la corteza adrenal, los 17-cetoesteroides aumentan de la orina, especialmente la fracción (superior a un 50 %). En las hiperplasias también hay valores altos, a veces cifras superiores a los 25 ó 50 mg. El aumento radica sobre todo en la fracción α. Según Rambert la mujer normal excretaría de 5 a 18 mg/24 horas. En el sindrome de Cushing las cifras son normales o ligeramente modificadas, salvo caso de tumor, pero los 11-oxiesteroides, están claramente aumentados.

Quiroga, Marenzi y Corti (1950) verifican determinaciones en el acné juvenil polimorfo de la mujer encontrando - valores altos de excreción.

Selye (1949), encuentra en las mujeres eunucoides 3 a 13 mg/24 horas de 17-cetoesteroides. Según este autor la orina de dichas mujeres posee alrededor de 1/3 de la concentración normal de 17-cetoesteroides. Poco después de la ovariectomía, los 17-cetoesteroides no varían, pero ocasionalmente años después de la operación, estos valores aumentan.

En la enfermedad de Addison los andrógenos y los 17-cetoesteroides caen a muy bajos niveles en ambos sexos. En algunas enfermas addisonianas los 17-cetoesteroides no son valorables.

En la enfermedad de Simmonds los andrógenos y 17-cetoesteroides caen a valores extraordinariamente bajos.

La acromegalia y la enfermedad de Cushing, no siempre ofrecen valores altos.

En la hiperplasia y tumores adrenocorticales la excreción urinaria de andrógenos y 17-cetoesteroides puede alcanzar niveles extraordinariamente altos. En una mujer de 30 años de edad con una metástasis de un cáncer adrenocortical, se encontraron 2.100 mg de 17-cetoesteroides diarios.

Según Selye el hirsutismo es también frecuentemente acompañado por un incremento en la eliminación de 17-cetoesteroides, pero la causa de esa anomalía no es siempre la misma. Los tumores de ovario virilizantes, tienden a aumentar la eliminación de andrógenos y 17-cetoesteroides. Hay ciertos adrenoblastomas que causan virilización pero sin un aumento concomitente en la excreción de 17-cetoesteroides. Otras enfermedades como hipertensión, diabetes, mixedema, y tirotoxicosis son a menudo acompañadas por una disminución de la eliminación de 17-cetoesteroides. Algo análogo ocurre en la inanición prolongada o cualquier otro tipo de stress.

Falcos (1950) presenta diez casos de pubertad precoz en todos los cuales para la edad,se observan valores altos de 17-cetoesteroides,así como de gonadotropinas.Ello comprueba una vez más la existencia de una estrecha relación entre los esteroides eliminados por la orina y los cambios en la esfera sexual y somática.

Tarnopolsky,Bontuori y Schero (1950)Cantrecasas y Socarras (1950)encuentran en las enfermas afectadas de Artritis Reumatoidea y Gota,una excreción de 17-cetoesteroides normal o ligeramente aumentada.

Schaposnik y Gutiarrez (1952)encuentranpor el contrario valores casi siempre sub-normales.-

Constabile y Volpino (1951),estudiaron la excreción urinaria de 17-cetoesteroides en mujeres con enfermedades reumáticas,no encontrando cambios significativos.En las embarazada con artropatías iniciales en el 6º a 9º mes,dicha excreción estaba disminuida con respecto a las cifras halladas en embarazos normales.

Esforzo Membrives y col.(1951),determina la cetosteroidurea de 28 pacientes de sexo femenino con hipertricosis. los valores más altos encontrados fueron entre 16 y 19 mg/24 hs. según técnica de Baltorff y Kock,modificada por uno de los autores y cuyos valores normales oscilan en 6 y 17 mg/24 horas.

Dobriner (1951) encontró un metabolito anormal en 11-hidroxi etiolanona,en la orina de pacientes con neoplasias.

Castex y Schteingart (1951) hacen resaltar que en la mayoría de los casos de hipertricosis o hirsutismo,interviene el factor de hiperfunción androgónica corticoadrenal,revelable por el aumento de los andrógenos y 17-cetoesteroides,por lo que la determinación de éstos ,constituye un elemento de valor.

Lieberman y col. (1952) aislan de la orina humana la Δ^9-Etiocolanolona y la Δ^9-Androstenolona y señalan que ambos son derivados de la deshidratación de los metabolitos adrenocorticales 11-hidroxi etiocolanolona y 11-hidroxi androsterona.

Botella Llusia, Santos Ruiz y Gómez Maestro - - (1952) controlan la excreción de 17-cetoesteroides neutros en mujeres ovariectomizadas después de una sola inyección de 5.000 u.i., de gonadotropina coriónica, encontrando 14.08 mg/24 horas y de - 6.72 mg en el segundo día siguiente a la inyección. La cifra control era de 6.28 mg/24 horas.

Los autores consideran que estos esteroides son producidos por la corteza adrenal, puesto que la mujer ovariectomizada, no tiene otra fuente de producción.

Gebauer A., Linke A. (1952) observan que en condiciones patológicas se produce un exceso de hormonas andrógenas del grupo de los 17-cetoesteroides, que es causa en los niños de pubertad precoz; en las niñas de seudohermafroditismo y en las mujeres adultas de crecimiento de pelo en la cara, en el tronco y - en los miembros; de cambio de voz que se vuelve grave; de disminución de tamaño de las mamas y aumento de clítoris y de suspensión del período menstrual. En todas estas edades está muy aumentada la eliminación de 17-cetoesteroides por la orina. Se supone según los autores que las androsterones se producen en las células con granulaciones fucsinófilas en la zona reticular.

Santos Ruiz, Gómez Maestro y Botella Llusia (1951), encuentran en la mujer castrada una cifra de 7.2 mg/24 horas, durante 4 a 8 días. Este valor aumentado, revela hipertrofia de la zona sexual de la corteza adrenal.

Miller, Rosenkrantz y Dorfman (1953) describen el aislamiento de la orina de una mujer con carcinoma adrenocortical, de la Δ^4-Androsterona-3,17 diona y de la orina de una mujer

con probable hiperplasia drenal el Δ^{16}-Androsteno 3 (α)-ol.

Rocca (1953) dice que en la hiperticosis, hay un gran aumento de andrógenos, que varía según el proceso anatomopatológico responsable del cuadro y que se pone de manifiesto por el aumento de 17-cetoesteroides urinarios, que alcanzan los valores más altos en los casos de neofromación, siendo moderadamente elevados en las hiperplasias,

Valery Salvatierra (1953), estudia las variaciones de la cetoesteroidurea en el curso de diferentes procesos vinculados a los trastornos de crecimiento de origen hipofisario.- Así encuentra: a) que se hallan dentro de los límites normales en el enanismo raquítico; en la acromegalia; en la obesidad pletórica hipofisocortical; en el sindrome adiposo hipogenital transitorio; en la acondroplasia; en el mongolismo y en la criptorquidia mecánica y en la falsa.

b) se encuentran disminuidos en el infantilismo y enanismo hipofisario; en el sindrome adiposo hipogenital permanente hipofisario o gonadal; en la criptorquidia hipofisaria y en la caquexia hipofisaria.

c) a veces se encuentran ligeramente elevados en algunos casos de obesidad pletórica hipofisocortical, de acondroplasia y de mongolismo.

Como prueba de diagnóstico diferencial tiene valor su determinación en los siguientes sindromas:

a) Entre el sindrome adiposo hipogenital transitorio y el permanente. En el primer caso están normales y en el segundo muy disminuído.

b) Entre la obesidad pletórica hipofisocortical (Cushing) donde están normales y el sindrome adrenogenital (Gallais) que aparecen muy elevados.

c) En la criptorquidia mecánica, se encuentran normales, mientras que en la hipofisaria, aparecen disminuidos.

Millan y Gutiérrez (1952), encuentran hipocetosteroidurea, en casos de detención del desarrollo embrionario o - disnomalías complejas (hipospadias, criptorquidias) y también en sindromes somáticos psíquicos, en los que clínicamente se intuye una hipofunción androgénica.

Bergna, Schaposnik y Gutierrez (1954) observan reducción en la excreción de 17-cetoesteroides en un caso de panhipopituitarismo asociado a Diabetes insípida.

Colque y Waiss (1953) establecen que la dehidroisoandrosterona (separable de los 17-cetoesteroides neutros mediante la precipitación con digitonina) solo está presente en - - grandes cantidades en los casos de tumores adrenales virilizantes. En estos casos los 17-cetoesteroides como así también la dehidroisoandrosterona solo descienden después de la intervención quirúrgica.

Dingemanse y col. (1953) determinan los 17-cetoesteroides de 18 mujeres entre los 18 y 38 años de edad afectadas de acné y 26 mujeres normales, no encontrando diferencias apreciables. En lo que respecta a la composición de la mezcla de 17-cetoesteroides los autores tampoco hallan variaciones en las orinas - de mujeres con acné y las de control. Hallazgos similares hemos - encontrado,nosotros, como se consigna en la tabla respectiva del Capítulo V.

Jailer y Vande Weile (1954) verifican estudios en 78 mujeres afectadas de hirsutismo. Determinan la cetoesteroidurea y la relacionan con otros hallazgos clínicos. Comprueban - que en el hirsutismo adrenal los 17-cetoesteroides están ligeramente aumentados: 15 a 35 mg/24 horas. La mayoría de estas pacien

poseían un ciclo ovulatorio y menstruación normal. El aerograma - pre-sacral fué hecho en 8 casos. No se encontraron signos de tumor. Las cantidades de dehidroisoandrosterona encontradas fueron casi siempre altas. La administración diaria de 50 mg de cortisona, provocó la desaparición de la dehidroisoandrosterona del total de 17-cetoesteroides excretados, y la disminución de otros esteroides, con excepción de la 11-ceto etiocolanona, que parece - ser un metabolito de la cortisona.

Sacchi, Natoli y Zilli (1953) llegan a conclusiones muy semejantes a las de los autores anteriores en los estudios realizados con la cetoesteroidurea de mujeres afectadas de - hipertricosis. Dicen los autores que las mujeres con hipertricosis no se comportan de manera uniforme con respecto a al eliminación de los esteroides urinarios. En algunos casos la eliminación de 17-cetoesteroides, se acompaña de una elevada eliminación de - dehidroisoandrosterona, metabolito débilmente androgénico que - - constituye un elemento indicador seguro de la funcionalidad de la zona endrógénica de la corteza adrenal. En estos casos de cetoesteroidurea alta, se supone con toda probabilidad una patogenia - corticoadrenal, aunque el examen de la glándula, mediante neumoperitoneo, haya resultado negativo.

Kelces (1955) verifica gran número de determinaciones de 17-cetoesteroides en enfermas con síndromes de virilización, encontrando que el número de enfermas con valores normales, constituye un porcentaje bastante elevado, alrededor del 50 %, - aunque casi siempre con tendencia a los valores máximos.

Groen, De Vries y De Wied (1955) estudian la cetoesteroidurea en el síndrome adrenogenital, en tres niñas y un - muchacho, encontrando en dos de éllos una excreción muy elevada - de androsterona y en los otros dos, la etiocolanona estaba marca-

damente incrementada.

Ferrini, Leonardi y Ferrara (1956) hacen determinaciones de esteroides urinarios en el sindrome premenstrual de 24 enfermas. En 8 casos encontraron un aumento de la exereción de esteroides fenólicos y una tendencia a la cetoesteroidurea elevada en 7 casos. La excreción de corticoides se mantuvo, dentro de límites normales. La conclusión a que llegan los autores es, que el sindrome premenstrual, se debe a un desorden neuro-endocrino.

CAPITULO V

METODOS DE DOSAJE DE LOS 17-CETOESTEROIDES NEUTROS URINARIOS 17-CETOESTEROIDES PLASMATICOS 17-ESTEROIDES CETOGENICOS TECNICA EMPLEADA PARTE EXPERIMENTAL CIFRAS HALLADAS EN DIVERSOS ESTADOS FISIOLOGICOS Y PATOLOGICOS DE LA MUJER. CONCLUSIONES

METODOS DE DOSAJE:

Se admite que la valoración de los 17-cetoesteroi
dos neutros urinarios se puede verificar por 3 métodos diferentes.

a) Métodos Físicos

b) Métodos Biológicos

c) Métodos Químicos

a) Métodos Físicos

Se basan en la determinación de la absorción de - la luz, para una longitud de onda determinada, generalmente en la rg gión ultra violeta del espectro, que corresponde al máximo de absorción de la substancia (Braegger, 1950).

También se determinarían por polarografía, verificando la onda de potencial característica que origina la hidrazona, formada al adicionar el Reactivo de Girard T. (Girard y Sandulesco, 1946).

Según Dorfman y Shipley (1951) el método polarográfico se ha empleado por pocos laboratorios. En una serie de experiencias se determinaron los 17-cetoesteroides por el método de Callow y por el polarográfico. Se encontró un coheficiente de correlación de 0,87 para la orina del hombre normal y de 0,83 para la orina de la mujer normal.

En general son métodos muy sensibles pero exigen el uso de dispositivos no accesibles para todos los laboratorios.

b) Métodos Biológicos

Dosan la fracción andrógena de los extractos urinarios. Ya hemos visto que no todos los 17-cetoesteroides poseen - acción andrógena.

La medida de esta acción andrógena se verifica - por el crecimiento de la cresta de capones (Callow, Callow, Emmens y Stroud, 1939).

Castex y Schteingart (1951) expresan que los andrógenos activos biológicamente que aparecen normalmente en la orina humana, son androsterona, dehidroisoan drosterona y ocasionalmente isoandrosterona en la orina de la mujer, así como 11-hidroxiandrosterona en ciertos procesos corticosdrenales.

Los andrógenos biológicamente activos también pueden dosarse por la prueba de la próstata-vesícula seminal en roedores (Gallagher y Koch, 1935 y Korentchevsky y Dennison, 1936).

Según Hamburger y Col (1945) y Castex y Schteingart (1951) se deduce que durante la pubertad la excreción andrógena aumenta en forma proporcional al desarrollo sexual, continuando durante la adolescencia para llegar a ser máxima a los 30 años de edad, cuando alcanza a 50 U.I. por día.

Desde los 40 años la excreción disminuye gradualmente y después de los 60 años cae por debajo del nivel mínimo normal de 20 u.i. diarias. Las variaciones individuales entre los 20 y los 60 años de edad son muy grandes, oscilando desde las 20 a 120

u.i por día.

En mujeres las cifras de andrógenos son usualmente mucho más bajas, la gran mayoría oscila entre 5 y 25 u.i. diarias.

Aunque no hay unanimidad de criterio, normalmente se acepta que los 17-cetoesteroides neutros que se dosan en la orina, provienen en sus 2/3 partes de la corteza adrenal y 1/3 de los testículos, existiendo cierto paralelismo entre los valores de andrógenos biológicamente activos y los 17-cetoesteroides totales. - Ello ha permitido emplear en la práctica la determinación de estos últimos como método de diagnóstico de la actividad androgénica gonadocorticoadrenal.

Según Marenzi (1950) considerando los valores promedios de los distintos autores, los 17-cetoesteroides androgénicos determinados por el método biológico se excretarían normalmente entre 3,8 y 9,9 mgrs./24 horas.

c) <u>Métodos Químicos</u>

Constituyen procedimientos más accesibles y son - los que más se usan.

Bishop (1954) expresa que fue Zimmermann (1935) - el primero en sugerir que las hormonas sexuales esteroidales podían ser determinadas cuantitativamente con el meta-dinitrobenzeno que - da un color rojo violáceo en medio alcalino, en presencia de compuestos que posean un grupo metileno activo.

La otra reacción aunque menos empleada es la de Pincus (1943), que mide el color azul obtenido por la acción de una so-

lución clorofórmica del tricloruro de antimonio, sobre el extracto de 17-cetoesteroides. Este color azul se considera específico para los alcoholes saturados que son los 17-cetoesteroides. Aunque debe consignarse que existen algunas excepciones. Así la androsterona-17, da coloración típica de la Reacción de Pincus, mientras que el Androstan-3 (β) ol, 17 ona, no la produce. Además la intensidad de coloración difiere en diversos esteroides, pues el Androstandiol - proporciona una intensidad de color que corresponde solamente a un 17 % del que produce la Androsterona.

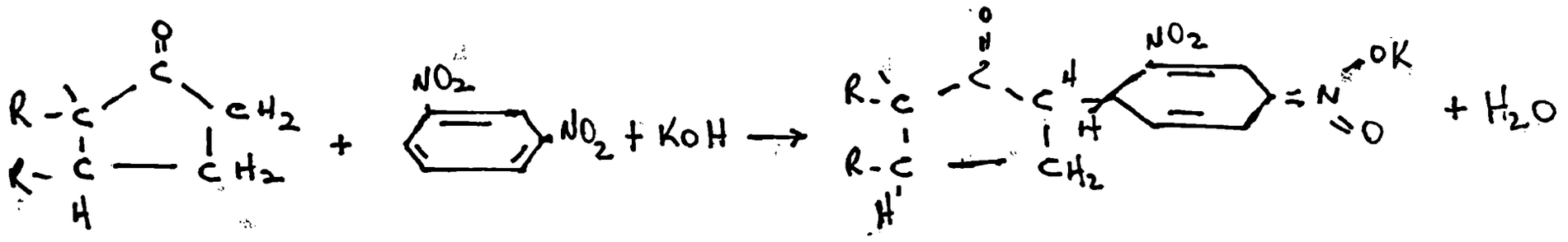
Las circunstancias señaladas limitan la utilización de la reacción a aquellos casos, en que hay un conocimiento - previo del tipo de substancias que van a dar la reacción.

Munson y Col (1948) han preconizado otro método de Valoración de los 17-cetoesteroides fundado en la reacción de Pettenkofer. La reacción se basa en la coloración obtenida cuando reaccionan compuestos esteroides que tengan un grupo hidroxilo o una doble ligadura en el anillo A y el anillo B no saturado, con furfural disuelto en ácido acético al 50 % y de H_2SO_4 16 N.

La reacción presenta el inconveniente de que un grupo COOH en el C.21, es equivalente a un grupo C=O en el C-17 y de que un grupo cetol en los C.20 y 21 aumenta el efecto cromogénico. Además los grupos hidroxilos en el anillo D, dan una intensidad de color en la reacción equivalente aproximadamente al que da un grupo cetónico en el C.20.

En general debemos consignar que la gran mayoría de ellos se basan en la Reacción clásica de Zimmermann que se considera

superior a todas las demás, a pesar de que también se le hacen objeciones por no considerársela específica. Como dijimos está basada en la coloración rojo violáceas que producen las substancias que poseen un grupo $\overset{|}{C}=O$ vecino a un grupo $\overset{|}{C}H_2$ no substituido (-CH_2-CO-) en medio alcohólico, en presencia de solución alcohólica de un dinitrobenceno y de hidróxido de potasio en solución acuosa o alcohólica. La causa de la reacción aunque no definitivamente establecida reside en la activación, que en el medio alcohólico y alcalino, sufren las posiciones orto y para del meta-dinitrobenceno, por la presencia de nitrogrupos y a la activación en las mismas condiciones del grupo metileno vecino al $\overset{|}{C}=O$, lo cual permite la condensación del m.dinitrobenceno con el grupo metilénico. Esta reacción comporta una coloración rojo violaceas con los esteroides con función cetona en el C-17, el mecanismo de la reacción, fue indicado en 1944 y requiere la existencia de un hidrógeno activo en alfa sobre el C-16, para la condensación del m.dinitrobenceno



La reacción no es específica y productos como la acetona y el ácido aceto-acético, la acetofenona etc., que poseen la agrupación -CH_2-CO-, pueden darla. También hay sustancias como la creatinina que a pesar de no tener la agrupación anterior, dan la reacción. No ofrece sin embargo mayores problemas, a pesar de que puede existir en la orina, porque no es soluble en el éter utilizado en la extracción de esteroides y además es eliminada en los procesos de la-

vado de los extractos etéreos.

Mediante la Reacción de Zimmermann se pueden detectar los tres cetoesteroides neutros más importantes, la Androsterona, la Dehidroisoandrosterona y la Etiocolanona. Todos dan esta reacción con la misma intensidad cuando están al estado puro. Pero los 17-cetoesteroides que se eliminan en la orina, se encuentran no al estado puro o libre, sino al estado de complejos esteroidales (sulfatos y glucuronidatos), que es necesario tratar, para dejar dichos 17-cetoesteroides libres y extraerlos de la orina con un solvente adecuado. En otras palabras antes de aplicar la - Reacción Coloreada de Zimmermann o alguna de sus modificaciones, es necesario la preparación conveniente de los extractos urinarios y ello se consigue por una serie de etapas que van, desde la Recolección de la orina, hidrólisis, extracción, lavado, eliminación de cromógenos etc., hasta la Reacción Colorimétrica, purificación de reactivos, lecturas Fotométricas o Fotocolorimétricas y obtención de resultados.

Vamos a pasar al análisis de cada una de estas etapas para luego hacer una revisión general de los principales - métodos que en base a la Reacción de Zimmermann hoy día se aplican en los distintos laboratorios y por último daremos la técnica seguida en el presente trabajo y los datos hallados en distintos estados fisiológicos y patológicos en la mujer.

ETAPAS QUE INTERVIENEN EN LA TECNICA DE VALORACION DE LOS 17-CETOESTEROIDES

Recolección de la orina

Rivoire y Col (1950) expresan que la recolección por parte del enfermo de la orina emitida en las 24 horas, siempre es causa de dificultades por parte del mismo. Aconsejan para obviar los inconvenientes de esa recolección total, en reemplazarla por la verificada en 120', obteniéndose resultados concordantes con las muestras correspondientes a las 24 horas.

En general la mayoría de los autores aconsejan que la recolección se efectua durante un período de 24 horas, pues existen diferencias. La excreción de la mañana es cerca del 60 % superior a la nocturna.

Bishop (1954) afirma que hay considerables variaciones diurnas en la excreción de los 17-cetoesteroides, pero ello se compensa trabajando con muestras correspondientes a la emisión completa de las 24 horas.

Zuñartu y Col (1950) teniendo en cuenta las variaciones existentes en la excreción diaria de la misma persona, aconseja trabajar con muestras, correspondientes a un período mínimo de dos días, en algunos casos a cuatro días.

Generalmente es innecesario el agregado de substancias conservadoras. Se evita la formación de carbonato de amonio, que puede traer inconvenientes, con el agregado de una sal de un metal pesado, que inhiba la actividad de la ureasa (Bishop, 1954).

Pincus (1945) aconseja agregar a la muestra de 24 horas, 5 a 10 cm^3 de ácido clorhídrico; Cañadel (1953) 4 a 5 cc de ácido clorhídrico concentrado como conservador.

Thorn y Forsham, 1950 utilizan ácido sulfúrico al 50 %, 3 cm^3; Mason y Engstrom (1950) ácido acético glacial 10 cm^3. Otros como Pincus (1946), Forbes y Albright (1951) conservación en heladera entre 0° y 4°C. Por último Vestergaard (1951) afirman que los datos obtenidos a partir de orinas simplemente conservadas al medio ambiente sin conservadores, no difieren substancialmente de los obtenidos a partir de orinas previamente tratadas.

Hidrólisis.-

Es una de las etapas más importantes y constituye un problema aún no resuelto definitivamente, sabemos que los 17-cetosteroides aparecen en la orina conjugados con el ácido glucurónico y sulfúrico, de ahí que sea necesario ponerlos en libertad, la mayoría de los métodos de hidrólisis preconizados emplean ácidos minerales en caliente, que traen aparejados cambios estructurales en la molécula de varios esteroides ya sea por destrucción, deshidratación o transformación estereoisomérica. Trabajos recientes que utilizan la acción enzimática de la glucuronidasa β, parecen abrir buenas perspectivas, en este aspecto de la técnica, aunque con los reparos que significa, su empleo, ya que no es accesible a todos los laboratorios y además se ha demostrado que la hidrólisis nunca es completa.

Los métodos más empleados de hidrólisis, son pues, los que utilizan ácidos, a pesar de los inconvenientes antes apuntados.

Ha sido objeto de especial estudio, el llegar a una concentración ácida y una temperatura óptima en que la hidróli-

nia se verifique bien, con una pérdida mínima de esteroides.

Rivoiro y Col (1960) aconsejan verificar la hidrólisis en la siguiente forma: 60 ml. de orina en un Erlenmeyer de 100 cm^3. le agrega 1gr. de fosfato trisódico más 7,5 ml. de HCL conc. llevar a baño maría hirviente 30'. Enfriar rápidamente.

Zuñartu y Col (1960), dice que el grupo β hidroxilado del C11 de los esteroides adrenocorticales es eliminado, al ser calentados con ácidos, con la formación del compuesto no saturado correspondiente en C.9. Expresa además que es muy difícil llegar a un método simple de hidrólisis, que rompa los conjugados sin efectuar al mismo tiempo un cambio de los productos de la misma. Pueden ocurrir transformaciones en el mismo instante en que el esteroide es liberado y por lo tanto no son necesariamente debidas a la acción prolongada del ión hidrógeno, sobre ellos. Tampoco han dado resultado los técnicas que aconsejan extracción simultánea con hidrólisis, ya que igual se han producido los cambios.

El autor efectúa la hidrólisis mediante ebullición a reflujo durante 10' con 15 % v/v. de HCL concentrado, teniendo en cuenta todas sus limitaciones, ventajas y desventajas.

Jonson y Tötterman (1962) comparan 7 métodos de hidrólisis de los 17-cetoesteroides hemtros conjugados, saturados y no saturados, comprobando que en todos ellos, siempre hay algo de destrucción, especialmente de los esteroides no saturados.

Ford (1963) preconiza una hidrólisis acelerada con ácido clorhídrico en lugar de los métodos comunes de hidrólisis que utilizan la ebullición con ácido clorhídrico al 10% por 10'. El autor con

prueba que por hidrólisis moderada, los artefactos se producen en menor proporción.

Oneson y Cohen (1964), utilizan una mezcla de ácido clorhídrico y dioxano. Según los autores se obtiene un 17 % más de esteroides que usando ácido clorhídrico sólo. También afirman haber obtenido una buena recuperación de β esteroides, aproximadamente 80 % del total de los esteroides recobrados.

Bishop (1964) preconiza un método de hidrólisis y extracción simultánea, lo verifica en la siguiente forma: A una parte alícuota de orina: 100 ml., se le agregan 10 ml. de HCl conc. Se calienta a reflujo durante 10', a temperatura de ebullición. Luego se enfría y agregan 30 ml. de tetracloruro de carbono. Se calienta nuevamente por otros 10'. Se enfría y la capa de tetracloruro de carbono es removida y reemplazada por el mismo volumen de solvente fresco. Se calienta nuevamente a reflujo por 10'. La capa de tetracloruro de carbono es entonces separada y agregada al primer extracto. El total de extractos con tetracloruro de carbono, alrededor de 60 ml., es lavado sucesivamente con: 1) 20 ml. de agua, 2) 20 ml. de NaOH 2N, 3) 20 ml. de H_2O y 4) 20 ml. de agua. El extracto lavado de tetracloruro de carbono es entonces evaporado a sequedad, sobre un baño de agua, usando una bomba al vacío. El residuo seco se disuelve en alcohol absoluto, libre de aldehídos. El volumen de etanol puede variar de acuerdo al contenido de cetoesteroides esperado. En las orinas normales, se usan 4 ml. de Etanol. Para las orinas de bajo contenido en 17-cetoesteroides se pueden usar 2 mls. o 1 ml. de etanol. Los extractos etanólicos así obteni-

nidos pueden ser muy estables y solamente hay que tener cuidado que no se evaporen.

Glenn y Nelson (1953) expresan que la hidrólisis ácida de los corticoesteroides urinarios, probablemente cause considerables pérdidas. En vista de esto preconizan la hidrólisis enzimática con glucuronidasa β ya que gran parte de los corticoesteroides son excretados como glucurónidos. La cantidad de 17-cetoesteroides encontrada por este método fue menor que la obtenida, por hidrólisis ácida fuerte, debido según los autores a la conjugación de parte de metabolitos esteroidales como sulfatos u otros éstores.

Romanoff y Col (1960) verificaron la hidrólisis en orina de 48 horas correspondiente a una serie de hombres y mujeres, utilizando para ello glucuronidasa β. Los extractos resultantes fueron separados en 3 fracciones por cromatografía con gel de sílice. Cada una de estas fracciones fue luego analizada con tiras de papel cromatográfico. Se logró así la obtención de una muestra conteniendo 35 compuestos metabolitos de esteroides. Treinta de estos aparecieron en un 70 % o más de las muestras analizadas. Once se constataron en todos los casos. Se identificaron 5 de ellos como: pregnanotetrol - 3α; 11β, 17α-diona, pregnanotriol-3α; 17α; el diona 11,20; 17 hidroxicorticosterona; 11 dehidro-17-hidroxi-corticosterona y etiocolanol - 3α-17 ona.

Stich y Kalkreuton (1953), hidrolizan los 17-cetoesteroides conjugados con un extracto constituido por glucuronidasa β más fenol sulfatasa, que según los autores es sumamente activo. Dicho extracto acetónico fue obtenido a partir de Patella Vulgata. -

Cuando dicho extracto fue incubado con orina normal de hombre a un pH 6 por 96 horas, se obtuvieron cifras de 17-cetoesteroides que excedían en un 80 % a los obtenidas por hidrólisis ácida. Consignan los autores que los extractos así obtenidos fueron menos contaminados por los cromógenos urinarios que los obtenidos por hidrólisis ácida. El fraccionamiento mostró una marcada ausencia de artefactos, especialmente del 3 β- cloro-Androstano - 17 ona los autores consignan que el extracto obtenido a partir de la Fatalla Vulgata, es también capaz de hidrolizar la sal de sodio pura de Sulfato de Androsten 3 (β)ol-17 ona- a un pH de 4,8 a 5,0.

Fallio y Vedy (1953) describían un método donde los 17-cetoesteroides glucuronidatos, pueden ser separados de los 17-cetoesteroides sulfatos. La técnica consiste en la acetilación de la mezcla que contiene los 17-cetoesteroides conjugados. Los glucuronidatos se vuelven solubles en los solvente orgánicos, pudiendo así separados de los sulfatos, solubles en agua.

Rieca (1957), ensayó concentraciones variables de ácido clorhídrico de 5 - 40 %. La concentración del 5 % se ha demostrado insuficiente para lograr una buena hidrólisis en todas las orinas. Concentraciones de hasta el 10 % muestran una hidrólisis sensiblemente igual en la mayoría de las orinas ensayadas. Concentraciones superiores logran una hidrólisis máxima pero ya comienza a verse la aparición de cantidades relativamente importantes de cromógenos. El autor adopta la concentración del 23 % como la más adecuada para lograr una hidrólisis completa y con un tiempo de calentamiento de 15 minutos en total. En cuanto al calentamiento utiliza el baño en-

ría hirviente, ya que de esta suda la temperatura no alcanza á pasar de 80 - 85° C. El autor hace incapié que no pasar de esa temperatura es fundamental para reducir al mínimo la presencia de cromógenos.

Extracción y elección de solventes

Muchos son los solventes que pueden ser utilizado para la extracción de los esteroides libres. Además del Eter que el que más adeptos tiene, pues es el que extrae mayor número de esteroides, se pueden usar el tetracloruro de carbono, el benceno, el éter butílico, el dicloro etileno etc.

Kenneth Taylor y Baptist (1941), substituyen el éter butílico por el benceno como solvente de esteroides. Las ventajas son bajo punto de ebullición; los pigmentos urinarios se sublimizan muy poco y sus vapores no irritan.

Para facilitar la disolución de los esteroides han ideado varios aparatos cuyo objeto es el de mantener un contacto prolongado entre el disolvente y la orina.

Heterval (1940) describe un pequeño aparato para la extracción de andrógenos urinarios. Este aparato es una modificación del extractor de Soxlet, de construcción simple y según los autores puede ser aplicado para trabajos con pequeños animales:

Talbot y Consolazio (1940) preconizan el uso de - a) pequeño volumen de orina, b) hidrólisis con ácido clorhídrico en caliente, c) extracción simultánea con tetracloruro de carbono, d) eliminación de soluciones en éter.

Talbot y Langstroth (1930), describen un método -

que según los autores abrevia el tiempo de determinación y permite además la extracción del 80 % de los andrógenos urinarios en una hora con benzol. Algunos ensayos hechos con la ayuda de este método, muestran que cantidades significativas de androsterona y de dehidroandrosterona se pierden en la preparación de extractos urinarios, por el ensayo colorimétrico. La pérdida es significativa ocurre cuando el extracto etéreo es decolorado con carbón.

Uno de los problemas que se pueden plantear en la extracción, es la formación de una emulsión que impida la separación completa de la orina, del solvente. Schorr (1938) se refiere al uso como solvente del dicloro etileno que según dicho autor en el caso en que se forman emulsiones, estas se rompen con facilidad debido a su alta densidad y a la tensión interfacial del sistema dicloro etileno. Su punto de ebullición es de 82°C y es poco inflamable. Extrae dos veces con 30 - 40 ml. de dicloro etileno. Realizó extracciones en 40 orinas las cifras obtenidas son mayores que las obtenidas con éter etílico (+ 6,1 %) y en relación al tetracloruro de carbono, los resultados fueron menores (-5,7 %).

Paretto y Breues (1947), describen un aparato que hace posible una extracción completa en una hora, actuan sobre un litro y medio de orina. Tiene la desventaja del gran volumen utilizado, el tiempo es mayor y no se gana en precisión.

Un modelo de extractor que se funda en las distintas densidades entre el disolvente y la orina es el preconizado por Hershberg y Wolfe (1940). Los disolventes empleados con el butanol que según los autores es el que extrae menos substancias cromógenas.

tambien puede emplearse el benzol,éter,tetracloruro de carbono y cloroformo.-

Del Campo de Hachen y Colis (1951)emplean un extractor tipo Soxhlet,modificado por Falcos (1950).-

En lo que respecta al tiempo de duración de la extracción,Bronzi (1956)expresa que empleando el éter en las condiciones de técnica por él practicada o sea 5 mlts de orina más 20-25 ml de éter,con una sola extracción,agitando 1 a 2 minutos ,se recupera mas del95% de la hormona agregada.-

Una vez verificada la extracción ,es necesario el lavado del solvente que contiene los esteroides,que algunos autores han denominado extracto crudo,a los efectos de la separación de los 17 cetoesteroides neutros,de otros esteroides y fracciones coloreadas que puedan interferir en la determinación colorimétrica final.-

Siguiendo a Zuñartu y Col (1950) veamos cuales son esas distintas etapas.-

Separación de los cetoesteroides.-

El extracto crudo tiene cuatro grupos de substancias, a saber:

1) Compuestos acídicos,constituidos por los esteroides del grupo del ácido cólico.-
2) Compuestos fenólicos ,constituidospor los esteroides con anillos aromáticos.-
3) Compuestos neutros,constituídos por los esteroides metabolitos de las hormonas testiculares,del cuerpo lúteoy adreno-corticales.-
4) Fracción coloreada,nó esteroidal,constituída por diversos grupos cromógenos.-La separación de estos grupos se efectúa como sigue:

A) Separacion de los compuestos esteroidales neutros,de los esteroides acídicos y fenólicos.-

Se lleva a efecto por el lavado de la solución etérea del extracto crudo con solución saturada de bicarbonato de sodio que elimina los esteroides acídicos y con solución al 15% P/vde KOH que elimina los esteroides fenólicos.Una parte de los compuestos cromógenos es también eliminada en estos lavados.

En la técnica seguida en el presente trabajo,efectuamos los lavados con solución de bicarbonato de sodio al 10% y con solución de hidróxido de sodio al 10% respectivamente,seguida de dos lavados con agua destilada sola o adicionada con bisulfito de sodio o ditronito de sodio con el objeto de facilitar la remoción de las substancias de tipo quinona,que son solubles en álcali cuando están reducidas.-

Escamilla (1964)verifica el lavado por el agregado de 10 mlts de una solución fresca de hidróxido de sodio y una solución de hidrosulfito como sugiere Talbot y col.Esta solución fresca se prepara agregando 10 grs. de hidrosulfito de sodio en polvo a 100 mlts de hidróxido de sodio al 10%. El lavado es realizado en tres tiempos, agitando 1 minuto cada vez.Esto moviliza la fracción fenólica que contiene estrona y que como sabemos es también un 17 cetoesteroide. El extracto es entonces lavado tres veces con agua destilada,hasta reacción neutra.-

Ricca (1967)dice que la solución de hidróxido de sodio al 10%,es perfectamente eficaz aún estando fuertemente carbonatada Aconseja también lavar el extracto despues de usar la solución de hidróxido de sodio,con una solución de cloruro de sodio a media saturación(20%) para disminuir la alcalinidad dentro de lo posible. Se utiliza esta solución para el lavado en vez de agua destilada o

agua etérea,con el fin de regular el coeficiente de partición agua-éter de los esteroides.No es necesario lavar hasta neutralización completa.-

B) <u>Separación de los cetoesteroides de los esteroides sin grupo cetónico y de los componentes cromógenos.-</u>

Según Marenzi y col.(1947),Talbot,Butler y col.basándose en trabajos realizados por Callow,observaron que el espectro de absorción de los esteroides puros cristalizados,era algo diferente del espectro de absorción de los extractos urinarios.-

Este hecho indujo a los autores a estudiar las causas de divergencia entre las dos curvas de absorción y trataron de eliminar los errores debidos a substancias que se colorean con el reactivo de Zimmermann en forma inespecífica.Utilizaron el reactivo T. de Girard (1946) el cual aconsejan por ser el que más se presta para separar la fracción cetónica y obtener valores mas exactos,por cuanto la curva de absorción de la fracción cetónica,es la que más se aproxima a la de la hormona cristalizada.

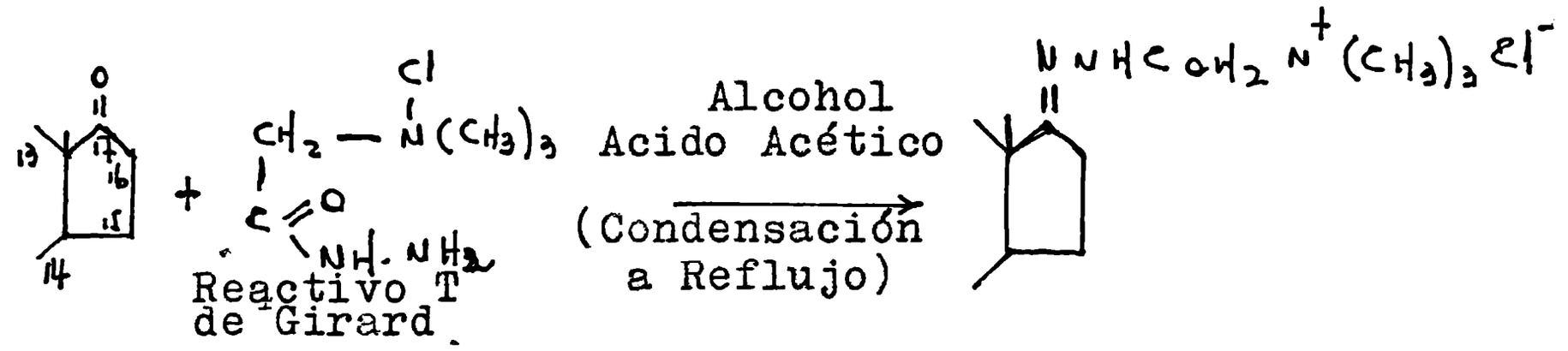
El reactivo T de Girard,que es el cloruro de trimetilacetohidrazida amónico,o sea la hidrazida del cloruro de Betaina,reacciona con los 17 -cetoesteroides,formando hidrazonas esteroidales hidrosolubles y de esa forma se los aisla de la fracción coloreada presente en el extracto urinario y que no es esteroidal.

La condensación se efectúa por reflujo durante una hora,entre la solución esteroidal y reactivo T. de Girard en alcohol,conteniendo 10% de ácido acético.Se diluye la solución con agua, se alcaliniza y el material no cetónico es removido por extracciones etéreas.De este modo se elimina la mayor parte de los compuestos cro-

mógenos.Luego se hace una hidrólisis ácida que rompe la hidrazona esteroidal,liberandose los cetoesteroides que se extraen libres de substancias colorantes con éter.Finalmente ,esta solución etérea es evaporada a sequedad,obteniéndose un extracto purificado que puede ser valorado.-

Algunos autores manifiestan qué las hidrazonas son parcialmente hidrolizadas,aún bajo las mejores condiciones de trabajo recomendadas,absorbiendo al mismo tiempo algunos cromógenos.

Se ha comprobado una pérdida del 10% con este método,no obstante se recomienda su aplicación siempre que se quiera obtenor un extracto puro.



Existen otros procedimientos para eliminar los errores debidos a substancias que dan coloraciones parásitas con el R.de Zimmermann.Algunos autores emplean los métodos cromatográficos, a los cuales nos referiremos más adelante.Oesting (1938) propone el carbon activado,que fijaría las substancias no cetónicas,pero Talbot y col. (1940) han comprobado que se disminuia apreciablemente la cantidad de esteroides.

Tambien se emplean los procedimientos ópticos de corrección preconizados por Allen (1950).El principio se basa en que cuando dos substancias coloreadas están contenidas en una misma solución y no hay una interacción entre ellas,la densidad en un punto

del espectro, es igual a la suma de las densidades ópticas de cada una de esas substancias.-

Algunos autores han propuesto fórmulas,para solucionar el problema de los cromógenos.Parten de la circunstancia de que la curva de absorción máxima para los 17-cetoesteroides está en la zona del color verde (5200 Å),mientras que para la fracción no cetónica (pigmentos y substancias interferentes) la máxima absorción se registra en la zona del violeta (4300 Å),así los expresa Bishop (1954) Marenzi y col. (1947) Dorfman y Shipley (1951),dicen que estas ultimas substancias registran su máxima absorción en los 4100 Å.

Talbot,Berman,Mac Lachlan y Jones, (1940) aplican la fórmula siguiente a los efectos de separar las distintas fracciones:

$$L = \frac{K\,(Eg) - Ev}{K1 - Ks}$$

Eg = Extinción en verde

Ev = Extinción en violeta

$K1 = \frac{Ev}{Eg}$ (K1 es alrededor de 1,5 para substancias que interfieren

$Ks = \frac{Ev}{Eg}$ (Ks es alrededor de 0,5 para la fracción cetónica,por el reactivo T. de Girard).

Simplificando la fórmula,queda K (Eg)-Ev.

K sería 1,7 para el Pulfrich o 1,5 para el Klett Summerson (Baicos 1949).

Talbot,Berman y Mac Lachlan (1942) sugieren el uso de la siguiente fórmula,para la corrección de los cromógenos que interfieren:

$$\text{Valor corregido (verde)} = \frac{\text{D.observado} - 0{,}6\ V}{0{,}73}$$

G : Será la observación para el verde (5300 ºA)

V : " " " " " violeta (4300 ºA)

De modo que a la extinción observada en el verde,se le substrae 0,6 de la extinción observada con el filtro violeta y se lo divide por 0,73.

Según Baroni y col. (1947) de todos estos métodos los mas exactos para separar la fracción cetónica (17-cetoesteroides) de la nó cetónica (substancias cromógenas) son los que usan el Reactivo F.de Girard.Hay que dejar sentado además que las substancias cromogénicas,solamente representan de un 10 a un 15 % del total de la fracción neutra.Ocasionalmente pueden llegar a un 25% (Escamilla,1954) .De modo que son problema unicamente en la cetoesteroidurea baja o en el embarazo que con frecuencia ofrece gran eliminación de las mismas.-

Secado del solvente.-

Cuando es el éter el utilizado,el secado se verifica por el agregado de 1 a 2 grs.de sulfato de sodio anhidro,dejando contacto unos 3 minutos.Prácticamente no hay pérdida y ésta se puede suprimir si la humidera,lavando el sulfato de sodio después de la desecación con una pequeña cantidad de éter que se incorpora al extracto etéreo.-

Evaporación del solvente.-

La evaporación del éter puede verificarse a distintas temperaturas.No conviene pasar de los 100 ºC.lo más frecuente es a 60-80 ºC.Algunos aconsejan el uso del vacío,otros la corriente de nitrógeno, no considerándose en general que sean necesarios.-

El único inconveniente que existe en el uso del éter es el de su inflamabilidad;algunos autores aconsejan reemplazarlo por el tetracloruro de carbono,que no es inflamable.-

Escamilla (1954) evapora el extracto etéreo en un erlenmeyer en la obscuridad sobre una plancha caliente.Luego coloca en un desecador y así consigue ese extracto etéreo indefinidamente.-

Valoración colorimétrica de los 17-cetosteroides neutros totales.-

Ya dijimos que Zimmermann (1936) fué el primero en sugerir que los hormons esteroides sexuales podían ser determinados cuantitativamente por el uso de metadinitrobenceno,el cual daba una coloración rojo violácea en medio alcalinocon los compuestos que poseyeran un grupo metileno activo.-Zimmermann (1936) describió un método aplicable tanto a las substancias puras,como a los extractos urinarios. Lu y Chou (1937) publica una modificación a este método usando androsterona como substancia de referencia .Costing y Webster (1938) usan la tecnica de Zimmermann y correlacionan los datos obtenidos colorimetricamente con ensayos biológicos en capones.-

Callow,Callow y Emmons (1938) verifican una cuidadosa y completa investigación con la R. de Zimmermann aplicándola a substancias puras y a extractos urinarios y describen un método modificado para la determinación de 17-cetoesteroides.Algunas variaciones y modificaciones son posteriormente publicadas por Callow y col.(1939) Posteriormente se denominó a esta técnica,método de Callow-Zimmermann; utilizan soluciones de KOH en alcohol absoluto.-

Friedgood y Whidden (1040) modifican el método de Zimmermann usando un procedimiento espectrofotométrico en el colorímetro de Costing.La única diferencia importante en el método de estos autores con el de Wu y Chow y Calliow residen en la proporción de agua de la mezcla reaccionante.Wu y Chow usan alcohol absoluto,mientras que Friedgood y Whidden (1941),utilizan alcohol de 65%.-

Holtorff y Koch (1943)estudian las condiciones óptimas para efectuar la reacción de Zimmermann.Emplean solucion al 2% de m-dinitrobenceno,en alcohol de 95% redestilado.Utilizan KOH N/2 acuosa con una variación de mas o menos 0.02N y colocan la mezcla reaccionante a 25 °C mas o menos 0,02 °C,durante 45'.Señalan la importancia de que la solución acuosa de KOH esté bien valorada y que no se haya carbonatado.A 0,2 mlde KOH N/2,agregan 10,4 ml de alcohol redestilado al 95%,si no queda perfectamente clara,debe usarse otro lote de KOH.-

Drekter,Bartczak,Pearson y Mc.Cavack (1947) propusieron un método de aplicación clínica muy simplificado que fué utilizado por Mc.Cavack,Konigsberg,Shearman y Drekter (1948).Los autores disuelven el residuo de la evaporación del extracto etéreo de la fracción androgénica purificada de la orina en 0,8 ml de alcohol absoluto.De este volumen colocan 0,2 ml en un tubo de ensayo,agregan 0,2 ml de solución al 2% de m-dinitrobenceno en alcohol absoluto y 0,2 mlts de solución de KOH N/2.Agitar y llevar a baño de 25 °C.(mas o menos 0,2 °C)durante 90'. Después de ese tiempo agregan una mezcla de 3 partes de alcohol absoluto y una parte de agua.La coloración obtenida se mide en el fotómetro.-

Pearson y Ginocone (1948),acortan la técnica anterior y para ello emplean solución acuosa de KOH. 8 N,en lugar de 5 N,con lo cual obtienen la misma intensidad de color en 20' en lugar de 90'.

Mirenal y Kraegger (1949) adoptan el método de Drekter y col.y sus modificaciones ulteriores,aconsejando efectuar la reacción sobre el total del residuo del extracto etéreo,cuadruplicando las cantidades de los reactivos usados por Drekter y sus col. El mayor volumen final de la reacción,permite utilizar en la observación fotométrica,cubas de mayor espesor en caso necesario y el lavado de las cubas.Esta técnica ha sido la seguida para nuestras determinaciones en el presente trabajo,con algunas ligeras variantes.-

En una reciente publicación Iovine,Goya Hoya y Villa (1957) detallan la técnica que en la actualidad aplican en el Instituto Nacional de Endocrinología para la determinación de 17-cetoesteroides.-

17-Cetoesteroides: Técnica de Cohen y Salter.Modificación Instituto Nacional de Endocrinología .-

Filtro verde

Longitud de onda : 520

Reactivos.-

1 - Eter etílico libre de peróxidos:agitar el éter en ampolla de decantación con solución acuosa de sulfato ferroso 1,5% (5 p.de éter por 1 p.de sulfato ferroso)lavar luego dos o tres veces con agua destilada y terminar de secar añadiéndole sulfato de sodio anhidro.-

2 - Metadinitrobenceno (droga especial para 17-cetoesteroides):solución al 2% en alcohol 95% purificado.-

Purificación del alcohol: a 1 litro de alcohol se le agregan 8 grs.de metafenilendiamina,dejándolo luego 2 mes en reposo y en la obscuridad,agitando de cuando en cuando.Este tiempo de estacionamiento se puede reemplazar por una ebullición a reflujo durante 1 hora,destilando luego y desechando los productos de cabeza y de cola.-

3 - Alcohol etílico 75°:mezclar 1 lt.de alcohol 95° con 250 ml.de agua destilada.-

4 - Sulfato de sodio anhidro.-

5 - Hidróxido de potasio 5 N:titulando con rojo de metilo como indicador .-

6 - Solución saturada de bicarbonato de sodio.-

7 - Solucion de $NaOH$ 2 N aproximada.-

8 - HCl. concentrado.-

9 - Solución testigo de dehidroisoandrosterona de 20 mgrs.% en alcohol purificado:0,2 ml del testigo equivalen a 20 mgr.de 17-cetosteroides por litro de orina.-

Técnica.-

Se analizan muestras de 24 hs.se mide el total y de este se usan 20 ml.-

Hidrólisis: 20 ml. de orina,mas 2 ml de HCl con.calentar a reflujo suave durante 20 minutos,enfriar bajo chorro de agua.-

Extracción: Extraer la orina hidrolizada y fría ,en ampolla de decantación con 50 ml. de éter purificado,agitando durante 2 minutos, dejar reposar hasta separación de capas,agitar otros 2 minutos y nuevo reposo a separación de capas,desechando la inferior acuosa.-

Lavar,la fase etérea,agitando 2 minutos por vez con:

1º) 20 ml. de solución saturada de bicarbonato d- sodio (elimina fracción ácida)

2º) Con 20 ml. de soluc. 2 N de NaOH (elimina fracción fenólica: estrógenos)

3º) Con 10 ml.de agua destilada (eliminael álcali remanente)

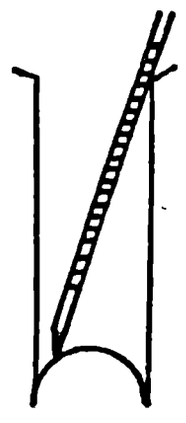
Una vez separada la última capa acuosa,se seca el éter con 1 o 2 grs.de sulfato de sodio anhidro,agregándolo en la ampo - lla de decantación y agitando suavemente.

El éter seco se vierte en un erlenmeyer de 125 cc.(tapa esmerilada) de capacidad,teniendo cuidado de no arrastrar sulfato de sodio:si hubiera dificultad,filtrar por un buen papel,lavando la ampolla o el embudo con 5 ml.de éter que se pasa al erlenmeyer.

El extracto etéreo se lleva a sequedad con ayuda de va- cío y calor suave,siendo muy conveniente agregar unas perlas de vi- drio para evitar sobresaltos.

El residuo etéreo debe quedar seco; en caso contrario se lleva a un secador con ácido sulfúrico o cloruro de calcio.En esas condiciones puede conservarse varios días hasta el momento de prac- ticar la reacción colorimétrica.-

El residuo etéreo seco,se disuelve en 2 ml.de alcohol pu- rificado.-



Preparar 4 tubos de ensayo Pyrex con el fondo en la siguiente forma:

	Desconocido	Blanco desconocido	Testigo	Blanco reactivos
Extrac.alcoh.	0,2 ml.	0,2 ml	- - -	- - - -
Alcoh.purific.	- - - -	0,2 ml	- - -	0,2 ml
Sol.Test.20 mgrs%	- - -	- - -	0,2 ml	- - - -
Sol.m-dinitroben.	0,2 ml	- - -	0,2 ml	0,2 ml
Sol.Koh 6 N	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml

Colocar los tubos a B.M.25 °C,en la obscuridad durante 105 minutos .Pasado este tiempo diluir con 10 ml. de alcohol 75º y leer en el fotocolorímetro dentro de los 20 minutos.-

El resultado se obtiene de la siguiente manera:

Lect. 1 = lect.desconocido poniendo en 0 con blancos respectivos.

Lect. 2 = lect.blanco desc.poniendo en 0,con alcohol de 75º

Lect.corregida = lect. 1 - lect. 2;que se multiplica por el factor para obtener el resultado final en mg.por litro.-

Factor = 20 (conc.test)lect.test.poniendo en 0,con blanco reactivos.-

<u>Valores normales.-</u>

Mujeres adultas: 9 a 16 mgr.en 24 horas

Hombres adultos: 13 a 19 mgr.en 24 horas

<u>17-Cetoesteroides : Micrométodo de Zaludilo Hom (I.N.Endocrinología)</u>

Filtro Verde

Longitud de onda : 620

<u>Reactivos:</u>

1 - Eter etílico libre de peróxidos (ver método anterior)

2 - Alcohol etílico purificado (ver método anterior)

3 - Soluciones de m-dinitrobenceno al 1% y al 2% en alcohol purificado

4 - Sulfato de sodio anhidro

5 - Acido clorhídrico concentrado

6 - Hidróxido de sodio lentejas

7 - Alcohol para dilución (2 vol. de alcohol 96º común mas 2 vol.de agua)

8 - Hidróxido de potasio 7 N.

9 - Solución tipo de dehidroisoandrosterona de 20 mgrs. % en alcóhol purificado;0,2 ml del testigo equivalen a 20 mgr/lt. de 17-ceto - esteroides en orina.

Materiales Accesorios.-

1 - Microagitador de Coras

2 - Gradilla para tubos de Coras

3 - Tubo de Coras,2 para cada determinación.A la mitad de los mismos , hacerles un pico.

4 - Baño termoregulador a 25 ºC (mas o menos 0,5 ºC)

Técnica.-

En un tubo de Coras (con pico) se colocan 2 ml. de orina, 0,3 ml. de HCl conc. y una perla de vidrio.Se le adapta un refrigerante a reflujo consistente en un tubo de 20 cms. de largo por 3 mm. de diámetro insertado en un tapón de corcho, y se coloca a B.M. hirviendo durante 10 minutos.Retirar,dejar en reposo 10 minutos para que tome temperatura ambiente,quitar el refrigerante,agregar 6 ml. de éter libre de peróxidos , colocarle un tapón de corcho recubierto con papel de estaño, o un tapón de plástico (vinilo) de los contenidos en los envases de medicamentos,colocar en el agitador y hacer funcionar el aparato durante 15 minutos .

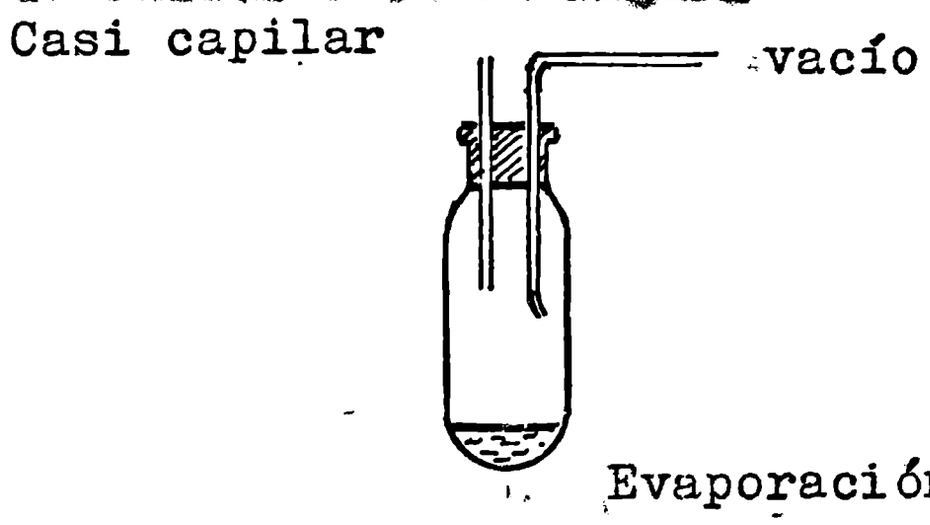
Terminada esta operación,dejar decantar,aspirar la capa acuosa inferior (que se desecha) con una jeringa de 5 cm3.pro-

vista de una aguja de 50 o 70 x 10,con punta roma;agregar a la capa etérea una lenteja de hielo,agitar durante 5 minutos (tapando el frasco).

Añadir luego una punta de espátula de sulfato de sodio anhidro,agitar 5 o 10 segundos,transvasando luego el éter seco , con ayuda de una pequeña varilla de vidrio a otro tubo de corcho sin pico,teniendo especial cuidado que no pasen ni la perla de vidrio,ni el sulfato de sodio.

Enjuagar el tubo con pico con 0,5 ml. de éter,agitar enérgicamente (a mano) y juntarlo con el extracto anterior.

Evaporar a sequedad el extracto etéreo,colocándolo a B/M. 50 a 60 °C,y ayudado con corriente de aire mediante la colocación de un tapón como el indicado en la figura:



Evaporación a sequedad

Una vez seco, se procede a la colorimetría.-

Colorimetría.-

Desconocido: Disolver el extracto con 0,4 ml. de solución de m-dinitrobenceno al 1%

Blanco: (común para cada serie de determinaciones):En un tubo Pyrex bien seco colocar 0,4 ml. d solución de m-dinitrobenceno al 1%.

Testigo: En un tubo Pyrex colocar 0,2 ml.de solución testigo d mgr.% y 0,2 ml. de solución de m-dinitrobenceno al 1% .

Agregar a cada tubo 0,2 ml.de KcH .7 N.incubándolos luego durante 30 minutos a 25 °C (mas o menos 0,6 °C);cumplido el tiempo ,añadirles 10 ml. de alcohol para dilución (7) mezclar y hacer la lectura entre 5 y 20 minutos,poniendo en cero con el blanco.-

Cálculo :

$$\frac{20}{\text{lect.testigo}} \times \text{lect.desconocido mg/litro de 17-cetoesteroides.}$$

Nota :

En este método,debido a la pequeña cantidad de orina usada, al no preparar el blanco del desconocido,se introduce un error menor del 1% (eliminamente despreciable) que se compensa ampliamente por la reducción a la mitad del trabajo necesario para cada determinación .

Fraccionamiento de los 17-cetoesteroides.-

Reactivo T. de Girard, Digitonina.Cromatografía .-

Ya vimos anteriormente que el uso del Reactivo T.de Girard,nos permite separar la fracción cetónica (que contiene los 17-cetoesteroides neutros)de la fracción no cetónica (cromógenos pigmentos,substancias interferentes).

La importancia de la separación de la fracción cetónica con el reactivo de Girard,no resida tanto en la determinación que se puede hacer de los 17-cetoesteroides,como en permitir el fraccionamiento posterior de la misma en dos grupos: los 17-cetoesteroides α y β hidroxilados,esto se lleva a cabo con digitonina.(Ibrenzi,1960)

La digitonina,nos permite pues verificar la separa -

ción de los cetoesteroides α (androsterona) de los cetoesteroides β (dehidroisoandrosterona).Estos últimos precipitan con la digitonina,de manera que efectuando sobre la fracción soluble (androsterona)la reacción de Zimmermann,lo que puede hacerse por la técnica de Langreth,Talbot y Finemun (1939) por diferencia con una determinación en el extracto total,se obtiene la concentración de dehidroisoandrosterona.Según Marenzi,Fraure (1942) ha propuesto una microtécnica que dá buenos resultados.El extracto seco se disuelve en un pequeño volumen de alcohol absoluto,se agrega un exceso de solución alcohólica o acuosa de digitonina y alcohol,para que su concentración sea aproximadamente 90%,se deja una noche en reposo y se forma un precipitado.La solución se extrae 3 veces,con 10 ml. de éter anhidro,agitando y centrifugando cada vez.Los extractos etéreos reunidos se lavan 3 veces con agua.El éter se evapora y el residuo contiene los α 17-cetoesteroides.El precipitado en el tubo de centrífuga se disuelve en 0,5 ml.de piridina y se calienta 3 minutos en baño de maría a 100 °C.Se enfría,se agregan 10 ml. de eter y se centrifuga.El éter se pasa a una ampolla de decantación.La operación anterior se repite en la misma forma,reuniendo el éter con la porción anterior. El residuo del tubo de centrifuga se lava 2 veces más con 10 ml. de éter y se reune con el anterior.-

Los extractos éter piridina reunidos ,se lavan 3 veces con 10 ml.de H_2SO_4 - 2 N y 3 veces con 25 ml. de agua.El extracto etéreo evaporado y secado corresponde a la fracción de β- 17-cetoesteroides y se determina por Zimmermann.-

En condiciones normales la excreción de α-hidroxi-17-cetoesteroides es predominante y representa del 85 al 95% de la ex-

ereción total.En ciertas afecciones,especialmente las relacionadas con la actividad corticoadrenal,la cantidad de 11 hidroxi-17-cetoesteroides aumenta y tiene importancia diagnóstica.

De acuerdo a los trabajos de Lieberman,Dobriner,Hill, Fieser y Moads (1948),en la orina de personas sanas y enfermas se pueden diferenciar 42 substancias caracterizadas como 17-cetoesteroides,de las cuales 36 han sido perfectamente identificadas.

Del total obtenido 35 pertenecen a derivados α. Los restantes, es decir 7, son derivados β.

La cromatografía constituye un recurso de indiscutible valor y ella es la que ha brindado los medios para poder llegar a ese fraccionamiento exhaustivo que permite la obtención de tan gran número de compuestos de los extractos urinarios.

Numerosas son las publicaciones que han aparecido en los últimos años preconizando este moderno método de fraccionamiento.Uno de ellos el de Romanoff y col. (1953) al que ya nos referimos en páginas anteriores.-

Rubin,Rosenkrantz,Dorfman y Pincus (1953) cromatografian a los 17-cetoesteroides no precipitados por digitonina , (fracción α) sobre un gel de sílice,usando benceno liviano y benceno éter,como soluciones eluyentes.Los 17-cetoesteroides fueron identificados ulteriormente por espectrofotometría infrarroja.Se iid ntificaron en esa forma 9 compuestos,de ellos 3 eran artefactos originados durante el proceso.Las verificaciones se realizaron en la orina de 12 hombres normales.-

Henry y Thevenot (1963),Piotti (1965) verifican fraccionamientos cromatográficos empleando columna de alúmina como a-

adsorvente.-

Mahlman y col. (1966) emplearon el mismo proceso de adsorción que el de los autores anteriores,verifican la separación cromatográfica de los 17-cetoesteroides urinarios con especial relación a la influencia de la gonadotrofina.

Los autores obtiene on esa forma 8 fracciones.Observaron que la dehidroisoandrosterona (III) y los 11 oxi-17-cetoesteroides (VI a VII) tenían un origen exclusivamente adrenal,mientras que la Androsterona (IV) y la Etiocolanona (V)eran de origen testicular.la fracción IV y V podía ser encontrada también en la orina de mujer en las personas de edad y aún en la orina de castrados.En hombres con gonadotrofinuria baja y en niños,la excreción de IV y V fué muy pequeña.En la mujer normal,se encontraron dos tipos de excreción .En el periodo del ciclo menstrual correspondiente a una gonadotrofinuria alta,la cifra es similar a la del hombre normal.En el periodo de gonadotrofinuria baja,la cifra es similar a la de la infancia. La administración de inyecciones de gonadotrofinas durante 11 días (1500 u i por día)en una mujer en amenorrea,no ofreció cambios remarcables en la excreción total de 17-cetoesteroides,pero las fracciones IV y V y las VI y VII aumentaron gradual y significativamente.los autores postulan que la gonadotrofina puede inhibir la 11-hidroxilación de la corteza adrenal,mientras que puede estimular la 17 y la 21 hidroxilación.

Johnson (1956)aconseja la adopción del método de fraccionamiento cromatográfico de los 17-cetoesteroides,como método clínico de rutina.Tambien utilizan en su técnica la columna de óxido de aluminio.-

17-Cetoesteroides Plasmáticos.-

A pesar de que como dijimos en el capítulo I,la valoración de la función corticoadrenal con la medida de los esteroides urinarios es mas empleada que la medida de los esteroides en sangre. Kelley (1956) considera que una valoración adecuada de la función adrenal requiere determinaciones simultáneas en sangre y en orina para comparar y combinar ambas en la apreciación final.

Dumazert y Valensi (1952) aplican la R.de Zimmermann,siguiendo el método de Cohen y Salter, a la fracción esteroidal del suero o plasma humano.Encontrando 9,6 mgr.por litro de 17-cetoesteroides neutros,en el hombre y 8,8 mgr/l.en la mujer.- Estos valores fueron independientes de las cantidades excretadas en la orina (9-19 mgr/24 horas).En ciertos desórdenes endocrinos los niveles sanguíneos aumentaron de 10-12 mgr./litro.

Gardner (1963) libera los 17-cetoesteroides de la sangre por hidrólisis ácida de la fracción proteica del plasma . los extractos son purificados por columna cromatógrafica ,usando un gel de magnesio silicio (florisil). La determinación colorimetrica se hizo por una micro-adaptación de la R. de Zimmermann y los resultados fueron expresados en µg acetato de dehidroisoandrosterona x 100 ml.de plasma .En el hombre normal ,se encontraron valores medios de 74 µg x 100 ml. de plasma(con una variación de 40 a 130µg En la mujer normal se registraron valores medios de 60 µg x 100 ml. de plasma (variaciones de 25 a 100). En los niños pre-adolescentes no se encontraron 17-cetoesteroides plasmáticos,tampoco en el plasma de las mujeres adrenalectomizadas y ovariectomizadas.En los niños,

recién nacidos se encontraron 100 µg x 100 de plasma, durante los dos primeros días de vida. Estos valores cayeron rapidamente durante la primer semana de vida, a concentraciones no dosables.-

Clayton y col. (1965) determinaron los 17-ceto - esteroides plasmáticos en 4 adultos normales de 23 a 30 años de edad. La extracción tuvo lugar de acuerdo al siguiente plan:

1) Extracción con eter-etanol
2) Fraccionamiento del residuo en éter-agua
3) Purificación de la fracción soluble en éter e hidrólisis con glucuronidasa β en medio ácido, de la fracción acuo-soluble.
4) Cromatografía de los residuos combinados después de la separación con el reactivo T. de Girard.
5) Identificación con la R. de Zimmermann por medio del espectro de absorción en ácido sulfúrico, test de los cromógenos azules por el método de Allen, espectrometría infrarroja y papel cromatográfico.

La dehidroisoandrosterona fué recuperada como el 17-cetoesteroides predominante en el plasma del hombre adulto (65% del total del contenido de 17-cetoesteroides que fué 17 µg /100 ml.) la androsterona fué también identificada (11 % del total de los 17-cetoesteroides plasmáticos.)

Favora y col. (1956) determinaron los 17-cetoesteroides plásmaticos en 60 hombres normales entre los 20 y 80 años de edad, aplicaron la cromatografía de los extractos clorofórmicos sobre columna de florisil. Encontraron que la cifra disminuyó con la edad y fué siempre comparable con la excreción urinaria.-

Esteroides 17-cetogénicos.-

También denominados 17-Esteroides cetogénicos (Kelley,1966) constituyen un grupo de Esteroides que por oxidación producen en cierto modo los 17-cetoesteroides.

Norymberski y col. (1954) tratan orina con bismutato de sodio en presencia de ácido acético y comprueban que los corticoesteroides que contienen un grupo glicol 17:20 o una cadena al lado con un glicerol o una cadena al lado con una hidroxi-cetona,son convertidos en 17-cetoesteroides.Los autores determinan primero los 17-cetoesteroides neutros totales en la orina,tratan posteriormente con bismutato de sodio y luego verifican nuevamente la Cetoesteroidurea total.La diferencia entre ambas determinaciones dá una medida de los corticoesteroides urinarios del tipo estructural especificado,denominados 17-Esteroides cetogénicos.Los autores establecieron las siguientes cifras:

Hombres normales : 9,6 a 19,2 mgr/24 horas

Mujeres normales : 4,6 a 13,4 mgr/24 horas

Niños normales : 2,3 a 3,8 mgr/24 horas

Hubble (1955) expresa,que entre los corticoesteroides capaces de transformarse por la acción del bismutato de sodio en 17-cetoesteroides se encuentra la hidro-cortisona.Según este autor la excreción urinaria de 17-Esteroides cetogénicos puede considerarse en la actualidad como el más seguro índice de la medida,de la actividad adrenocortical.-

TECNICA EMPLEADA - PARTE EXPERIMENTAL

A - Recolección y conservación de la muestra:

Es necesario instruir convenientemente al paciente, para la recolección. La que se efectúa durante 24 horas.

1) Se desecha la primera eliminación matutina. Se anota la hora.

2) Se recogen todas las orinas subsiguientes durante el resto del día, la noche y la primera muestra dela mañana siguiente, inclusive. Esta última debe coincidir, con la hora de la desechada el día anterior.

Aunque se ha comprobado que las orinas pueden conservarse varios días en la heladera o en lugar fresco, para los casos en que la hidrólisis no se verifique de inmediato, aconsejamos agregar 5 ml. de ácido clorhídrico concentrado a la diuresis total como conservador.

B - Hidrólisis:

Elejimos la hidrólisis ácida. Los dos ácidos más frecuentemente utilizados son el ácido clorhídrico y el ácido sulfúrico. Nosotros utilizamos el ácido clorhídrico ya que produce menos carbonización y destruye menos los esteroides.

Siguiendo a Drekter y Col (1947) la hidrólisis de la orina la verificamos con ácido clorhídrico en la proporción de un 30 %.

El calentamiento, lo llevamos a cabo en baño maría a 80ºC, durante 10 minutos.

Se toman 10 mlts. de orina más 3 ml. de ácido clorhídrico al 36 - 37 %.

La operación se realiza en un Erlenmeyer de 150 - mlts. de capacidad. El primer minuto con el recipiente destapado, para desalojar el aire del interior, los nueve minutos restantes - con el Erlenmeyer herméticamente cerrado. Pasado ese tiempo se enfría con corriente de agua.

En el cuadro nº 1 podemos apreciar las cifras obtenidas en la hidrólisis efectuada con distintas concentraciones de ácido clorhídrico.

El tiempo de 10 minutos, se ha comprobado que es suficiente para la hidrólisis total de los 17-cetoesteroides conjugados, habiéndose demostrado que un mayor tiempo de calentamiento, da cifras más bajas, lo que significa que hay destrucción.

Los cuadros nº 2 y 3, se refieren a las cifras - halladas, en orinas sometidas a la acción del calor, sin el agregado de ácido y a la acción destructora, que sobre los esteroides libres ejerce el ácido clorhídrico, una vez efectuada la hidrólisis, respectivamente.

C - <u>Extracción</u>:

La verificamos con Eter purificado.

Drekter y Col, aconsejan tomar 5 mlts. de hidrolizado, que corresponden a 2,85 mlts. de orina.

Nosotros siguiendo a Marenzi y Braegger, a los efectos de simplificar los cálculos ulteriores, tomamos 6,5 mlts. de orina hidrolizada, que correspondan a 5 mlts. de orina emitida.

La extracción la llevamos a cabo en una ampolla de decantación de 100 a 200 mlts. de capacidad.

CUADRO Nº 1

EFECTOS DE LA CONCENTRACION DEL ACIDO CLORHIDRICO EN LA HIDROLISIS DE LA ORINA, SOBRE LAS CIFRAS DE 17-CETOESTEROIDES NEUTROS.

Orina Nº	Concentración de Ac. Clorhídrico	Temperatura	Tiempo	17-Cetoesteroides Neutros
1	5 %	80 ºC	10'	1,12 mgrs/24 hrs.
	10 %	80 ºC	10'	1,87 " " "
	20 %	80 ºC	10'	3,75 " " "
	30 %	80 ºC	10'	4,12 " " "
	40 %	80 ºC	10'	6,75 " " "
2	5 %	80 ºC	10'	1,50 mgrs/24 hrs.
	10 %	80 ºC	10'	2,62 " " "
	20 %	80 ºC	10'	5,62 " " "
	30 %	80 ºC	10'	6,37 " " "
	40 %	80 ºC	10'	9,37 " " "
3	5 %	80 ºC	10'	0,75 mgrs/24 hs
	10 %	80 ºC	10'	1,00 " " "
	20 %	80 ºC	10'	4,50 " " "
	30 %	80 ºC	10'	5,00 " " "
	40 %	80 ºC	10'	7,00 " " "

CUADRO Nº 2

CIFRAS HALLADAS EN ORINAS CALENTADAS A 80 °C, DURANTE 30' SIN AGREGADO DE ACIDO		
Orina Nº	Datos	Cifras Expresadas en Mgrs. de 17-Cetoesteroides en 24 Hrs.
1	J.P.	2,70
2	D.P/	1,20
3	A.M.	2,12
4	S.A.	2,75
5	A.Ñ.	2,40
6	C.D.	1,75
7	E.D.	1,80
8	M.F.	2,40
9	T.D.	1,87
10	A.S.	2,05

CUADRO Nº 3

INFLUENCIA DEL MEDIO ACIDO SOBRE LOS ESTEROIDES LIBRES

Orina Nº	Fecha	Datos	17-Cetoesteroides neutros totales mgrs/24 hr.	Dias transcurridos desde la hidrólisis.	Destrucción
1	18-X-2 20-X-2	D.P. D.P.	2,39 2,06	2	13 %
2	18-XI-2 20-XI-2	M.M. M.M.	2,86 2,34	2	18 %
3	13-III-3 19-III-3	H.H. H.H.	12,38 10,12	6	18 %
4	10-X-4 20-X-4	V.S. V.S.	8,30 6,64	10	20 %
5	2-X-4 29-X-4	M.V.de A M.V.de D	7,50 5,0	27	33 %

Se toman los 6,5 mlts. de hidrolizado con 25 mlts. de Eter libre de peróxidos. Se tapa y se agita durante 30 a 60 segundos, dos a tres veces en forma enérgica. Hay que tener la precaución de separar el tapón esmerilado de la ampolla, una a dos veces, a los efectos de dejar salir los vapores.

Después de la agitación quedan dos capas líquidas, bien separadas; la superior, que es el extracto etéreo, contiene en disolución las hormonas esteroides; la inferior, es la ácido acuosa y se separa de la anterior por la llave de la ampolla.

En el Cuadro nº - 4 -, se demuestra la influencia en las cifras obtenidas de los peróxidos del éter y la conveniencia de su uso inmediato, después de la purificación.

En el Cuadro nº 5, algunos valores registrados con el empleo de éteres anestésicos más corrientes. El más adecuado es el Squibb, de acuerdo a nuestra experiencia, aunque debemos señalar que existen ciertas dificultades en su obtención, en los momentos actuales.

D - <u>Lavado</u>:

1) Se agrega al extracto etéreo contenido en la ampolla de decantación, 10 mlts. de solución acuosa al 10 % de bicarbonato de sodio. Se agita durante 30 a 60 segundos dos a tres veces. Se eliminan así en la fracción acuosa, los compuestos acídicos, del tipo de los ácidos biliares.

2) Se agrega al extracto etéreo, 10 mlts. de solución acuosa de hidróxido de sodio al 10 % (P/V). Se agita durante 30 a 60 segundos - dos o tres veces. Mediante este lavado, se eliminan los compuestos fenólicos, constituidos por anillos aromáticos, entre los que se encuentran los de acción estrogénica.

CUADRO Nº 4

AUMENTO DE LAS CIFRAS DE 17-CETOESTEROIDES POR ACCION DE LOS PEROXIDOS DEL ETER

Orina Nº	Fecha	Eter Purificado	17-Cetoesteroides Neutros totales - mgrs./ 24 horas -
1	8-VI-3	Recientemente destilado	4,60
	9-VI-3	A las 18 horas	6,30
	10-VI-3	A las 48 horas	11,20
	13-VI-3	A las 94 horas	13,80
2	3-VII-3	Recientemente destilado	8,10
	4-VII-3	A las 18 horas	10,50
	5-VII-3	A las 48 horas	16,00
	8-VII-3	A las 94 horas	18,20
3	12-VII-3	Recientemente destilado	7,50
	13-VII-3	A las 18 horas	9,30
	14-VII-3	A las 48 horas	15,10
	17-VII-3	A las 94 horas	16,80

CUADRO Nº 5.

CIFRAS DE 17-CETOESTEROIDES HALLADAS CON DISTINTOS ETERES			
Orina Nº	Fecha	Eter Anestésico	17-Cetoesteroides mgrs./24 horas -
1	28-V-3	SQUIBB RHODIA	1 mgr. 1,40
2	2-VI-3	SQUIBB RHODIA	8,25 10,50
3	10-VIII-3	SQUIBB RHODIA	7,0 8,75
4	1-VII-37	RHODIA ESTRELLA	2,06 4,25
5	5-VII-7	RHODIA ESTRELLA	6,44 6,67
6	17-VII-7	RHODIA ESTRELLA	5,56 4,03

3) Se agregan por dos veces, 10 mlts. de agua destilada adicionada de una pizca de ditionito de sodio. Se agita y se decanta cada vez.

4) Tenemos así el extracto etéreo, que como queda húmedo y en la ampolla de decantación hay frecuentemente gotas de agua, se le agrega una pequeña cantidad (1 a 2 grs.) de sulfato de sodio anhidro, lo - cual nos proporcionará, una vez evaporado, un residuo de evaporación libre de humedad. Se agita por rotación la ampolla, dejando en contacto unos tres minutos y se vuelca el éter residual, por la boca - de la ampolla en un tubo de 20 x 300mms.

A los efectos de evitar posibles pérdidas se adiciona a la ampolla 5 mlts. de éter, para arrastar pequeñas cantidades de esteroides que hubieran podido quedar adheridas al sulfato - de sodio o en las paredes de la ampolla. Se incorpora esta pequeña cantidad de éter a la anterior.

E - <u>Evaporación</u>:

Se practica directamente, en el tubo anterior, para ello se lo sumerge en un baño de agua a temperatura entre 60 y 80 °C. Se coloca una perlita de vidrio en el interior del tubo para regular la ebullición del éter y a los pocos minutos, la evaporación será - completa.

En esas condiciones el extracto etéreo seco puede - ser conservado indefinidamente y se puede entonces verificar con él, la reacción coloreada.

F - <u>Valoración colorimétrica de los 17-cetoesteroides neutros totales</u>

Se utilizó para dicha valoración el Fotómetro de Pulfrich, con el filtro S.55 que posee una máxima transparencia en los -

550 m μ., y una cuba de 1 cm. de espesor.

1) Sobre el mismo tubo donde verificamos la etapa de evaporación, agregamos 1,6 ml. de la solución alcohólica de Metadinitrobenceno al 1 %. Se agita cuidadósamente, procurando arrastrar todo el residuo seco del fondo y de las paredes de tubo, para descartar el fenómeno citado por Vesterguard, 1951, es decir la tendencia de los esteroides a subir por las paredes del tubo.

En algunos casos puede observarse una turbidez variable, que parece ser debida a modificaciónes en la concentración alcohólica del metadinitrobenceno, que precipita en concentraciones inferiores al 63 %. En términos generales, haciendo la solución de metadinitrobenceno al 1 %, en alcohol absoluto, este fenómeno es poco probable y en los casos en que se presentó, lo eliminamos centrifugando o filtrando por papel, la solución, antes de la lectura.

2) Se agrega luego, 1,2 mlts. de hidróxido de potasio, 8 N. en solución acuosa. Se mezcla con la solución anterior.

3) En tubo aparte se prepara el testigo, constituido por 1,6 mlts. de m.dinitrobenceno al 1 % en solución alcohólica, más 1,2 mlts. hidróxido de potasio 8 N., en solución acuosa.

4) Se sumerjen todos los tubos en un baño de agua mantenido a 25 ºC y se mantiene 20minutos en la obscuridad, para que se verifique el desarrollo de color.

5) Se retiran los tubos del baño de agua y se agrega a cada uno de ellos, 4 mlts. de alcohol de 70º, se mezcla por agitación suave y se practican las lecturas dentro de la media hora.

6) Lecturas:

Se verifican como dijimos anteriormente con el Fotómetro de Pulfrich, con el filtro S.55 y la cuba de 1 cm. de espesor.

Los resultados los expresamos en Dehidroandrosterona, de manera que tenemos que multiplicar las lecturas del Fotómetro por la inversa del coheficiente de extinción especifico de la dehidroandrosterona que para nuestro aparato y de acuerdo a las condiciones en que ejecutamos la reacción y a la técnica seguida, resultó ser 0, 119, ver cuadro nº 6 .

Se llega a la cifra de 17-cetoesteroides neutros totales excretados en 24 horas, relacionando el factor anterior con la extinción leida en el fotómetro y con el volumen de orina utilizado en la reacción.

Aplicando la siguiente fórmula tenemos:

$$0.119 \times Eh \times \frac{V}{5} = \text{mgrs. equivalentes de dehidroandrosterona en 24 horas.}$$

0.119= inversa del coheficiente de extinción especifica para la dehidroandrosterona.

Eh = extinción leida

V = volumen de orina excretados.

5 = volumen de orina tomado para el análisis.

<u>Determinación del coheficiente de extinción especifico para la Dehidroandrosterona</u>

Fue verificado en base a la Reacción de Zimmermann, con un volumen final de 6,8 ml., dejando 20 minutos en la obscuridad,

a 25 °C de temperatura y utilizando una solución de KOH, 8 N. Ver Cuadro nº 6.

Hemos verificado muestras determinaciones en base al cálculo absoluto, es decir empleando el Coheficiente de Extinción Especifico.

Siendo el coheficiente de Extinción Especifico: ε_o para la unidad de masa de substancia (mgr. o gr.). De acuerdo a la ley de Beer tenemos:

$$\lg \frac{Io}{It} = E = E.c.\varepsilon$$

Siendo L = 1 cm y E = extinción

$$\frac{E}{L} = E\,h$$

Eh = coheficiente de extinción

Entonces:

$$E\,h = c.\varepsilon o$$

De donde se puede calcular la concentración:

$$c = \frac{E\,h}{\varepsilon o} \quad o \quad c = Eh \times \frac{1}{\varepsilon o}$$

Como el valor $\frac{1}{\varepsilon o}$ es constante para una substancia determinada, si se hace $\frac{1}{\varepsilon o} = f$, se obtiene un factor, cuyo valor numerico multiplicado por la extinción de la solución estudiada, da la concentración en la muestra (Harenzi, 1941).

$$c = f \times Eh.$$

La inversa del coheficiente especifico: f, para nuestro fotómetro, y en las condiciones en que verificamos muestras de-

CUADRO Nº 6

COEFICIENTE DE EXTINCION ESPECIFICO PARA 1 mg. DE DEHIDROANDROSTERONA		
Dehidroandrosterona mgr.	Extinción hallada para 1 cm. espesor promedio de 3 lecturas	Extinción especifica para 1 mg. de dehidroandrosterona en 6,8 ml.
0,02	0,16	8,00
0,04	0,34	8,50
0,06	0,51	8,50
0,08	0,67	8,37
0,10	0,86	8,60
0,14	1,20	8,55
PROMEDIO:		8,42

terminaciones fue de: $f = \frac{1}{\varepsilon o} = \frac{1}{8.42} = 0.119$

De manera que:

$$c = 0.119 \times Eh.$$

que relacionada con la diuresis (v), pues expresamos los datos en la cantidad de orina eliminada en 24 horas y con 5 que representa el volumen de orina utilizado en la reacción, nos queda:

$$c = 0.119 \times Eh \times \frac{V}{5}$$

c = mgrs. equivalentes de dehidroandrosterona en 24 horas.

El cuadro nº 7, nos muestra los porcentajes de recuperación para la Dehidroandrosterona, que vemos son más altos, cuando la cantidad de hormona agregada es mayor.

CUADRO Nº 7

ENSAYOS DE RECUPERACION PARA LA DEHIDROANDROSTERONA

Dehidroandrosterona Agregada	Dehidroandrosterona Recuperada	Porcentaje de Recuperación	Porcentaje de Pérdida
20 mgrs.	18,8 mgrs.	94 %	6 %
15 mgrs.	13,98 mgrs.	93,2 %	6,8 %
10 mgrs.	9,37 mgrs.	93,7 %	6,3 %
5 mgrs.	4,60 mgrs.	92,0 %	8,0 %
2,5 mgrs.	2,29	91,6 %	8,4 %
PROMEDIO:		92,9 %	7,1 %

Preparación de los Reactivos

Purificación del Éter: El éter utilizado para la extracción debe - estar libre de peróxidos. Es necesario purificarlo, para lo que se puede seguir el siguiente método: En una ampolla de decantación de 1.000 ml. de capacidad se colocan 500 ml. de éter y se lava éste - con 4 porciones de 7 ml. cada una de la solución de sulfato ferroso al 10 % en H_2SO_4 N., agitando fuertemente y después de dejar separar las dos fases, se elimina la fase acuosa cada vez. El éter se lava ahora 4 veces con 7 ml. de NaOH N. cada vez, dejando separar y eliminando la fase de hidróxido de sodio.

Después el éter se lava con varias porciones de 7 ml. de agua destilada, agitando fuertemente y decantando, una vez que se ha separado la fase acuosa. El lavado con agua se repite, - hasta que las aguas de lavado sean neutras. Generalmente son necesarios 6 a 7 lavados. El éter así purificado, libre de peróxidos se destila en un aparato totalmente de vidrio y se utiliza en el día.

Este procedimiento ha sido el seguido por nosotros en nuestras determinaciones.

Maranzi (1956) preconiza el uso de un método simple de purificación del éter que consiste en lo siguiente: a un - frasco de éter común de 1 litro se le agregan 50 a 100 ml. de una solución de sulfato ferroso al 10 % en ácido sulfúrico normal. El frasco se tapa firmemente y se agita, de tanto en tanto, para mezclar las fases, que después se dejan separar. Conviene que el contacto inicial, con agitaciones frecuentes, entre el éter y la solución ácida de sulfato ferroso se prolongue durante 12 horas. Trans

currido este tiempo en el momento de usarlo, se separa una fracción del éter, de acuerdo a las necesidades y se destila rápidamente en un aparato totalmente de vidrio.

En los casos en que sea necesario verificar una sola determinación, para no tener que llevar a cabo las operaciones de purificación anteriores, se puede recurrir al empleo de Eter Anestésico que circula en el comercio.

Se puede verificar la ausencia de peróxidos del Eter mediante la siguiente técnica: a 10 ml. de éter se agrega 1 ml. de ioduro de potasio al 10 %. Se agita durante 1 hora o de lo contrario 3 días agitando de cuando en cuando. La ausencia de peróxidos se constata porque ninguno de los dos líquidos debe cambiar de color.

Alcohol absoluto: Para Bishop 1954 uno de los más importantes factores para obtener resultados satisfactorios en estas determinaciones es el empleo de un buen alcohol absoluto. Preconiza el siguiente tratamiento: el alcohol absoluto comercial o bien el alcohol de 96º, se trata con 4 grs. de m.fenilendiamina hidroclorhídrica, por cada litro. Se deja una semana en la obscuridad agitando de vez en cuando y se destila desechando productos de cabeza y cola.

Marenzi (1956) expresa que el alcohol absoluto se puede reemplazar por alcohol de 95º.

Metadinitrobenceno (M.D.B.) debe usarse droga cristalizada y purificada.

La técnica de purificación es la siguiente: 20 grs. de M.D.B. comercial, se disuelven en 750 ml. de alcohol de 95º. Se calienta a 40º. Se agrega luego poco a poco, 100 mlts. de una solu-

ción acuosa de hidróxido de sodio 2.N. Después de 5 minutos, la solución es enfriada y se le agrega 2.500 mlts. de agua. La mezcla se agita y se pasa por un embudo Buchner, el precipitado de N.D.B. que queda en el Buchner, se lava cuidadosamente con agua, se seca y recristaliza dos veces con 120 ml. y 80 ml. de alcohol.

Los cristales de N.D.B. así obtenidos tienen un punto de fusión entre 90 y 91,5 ºC.

Según Callow, Callow y Emmens la mezcla de un volumen de solución de N.D.B. al 1 % en alcohol y de un volumen de solución acuosa de hidróxido de sodio 2 N., no debe producir coloración, aún después de 2 horas de contacto (Marenzi, Braegger, 1950).

Hidróxido de Potasio 8 N: Se prepara partiendo de hidróxido de potasio puro y titulando la solución con ácido sulfúrico normal.

Alcohol de 70º: A 100 volúmenes de alcohol absoluto, se agrega 47,75 mlts. de agua destilada, o de lo contrario a 100 volumenes de alcohol de 96º, agregar 40,85 mlts. de agua destilada.

Valores hallados en distintas etapas fisiológicas de la mujer.-

Aunque las etapas de la vida femenina no tienen límites precisos,se puede establecer que las mismas son cuatro:la niñez,la adolescencia,la madurez sexual y el climaterio. (Caltroni y Ruiz,1965)

La niñez es el período que se extiende desde el nacimiento hasta los 12 años.Este lapso de la vida se puede dividir en dos etapas,la infancia que dura hasta los 7 u 8 años y la puericia que la continua.-

La adolescencia dura en nuestro medio entre los 12 y 18 años.-

La madurez sexual,se extiende desde la adolescencia hasta el climaterio,esto es desde los,18 hasta los 45 años.-

El Climaterio señala el pasaje de la madurez sexual a la senilidad.-

Hemos hecho determinaciones de 17-Cetoesteroides urinarios neutros y establecidos los valores Términos Medios para cada una de estas etapas de la vida femenina.-

Una vez hallados esos valores términos medios, vamos a hallar la Desviación Normal o Desviación Standard o Error Standard o Error cuadrático medio,aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Desviación normal o Error Cuadrático Medio} = \delta = \sqrt{\frac{\Sigma (X - \bar{X})^2}{n - 1}}$$

Donde vemos que el promedio : $\bar{X}$ se resta del valor de cada observación: X y la diferencia se eleva al cuadrado.

luego se suman los cuadrados,según denota Σ ,la suma se divi - de por N - 1.Es decir por el nº de determinaciones menos 1.La raiz cuadrada del cociente sera la Desviación normal o Error cuadrático medio (Cook y Martin,1950).-

También vamos a calcular el error procedio o desviación Standard del término medio,para lo que aplicaremos la siguiente fórmula:

Error Promedio o Desviación Standard del término medio

$$\delta' = \frac{\delta}{\sqrt{n-1}}$$

Como así también el coeficiente de Variación Porcentual.

Coeficiente de Variación Porcentual

$$C_V = \frac{\delta}{\bar{X}} \times 100 \%$$

Empleando estas fórmulas,con los datos que se consignan en los cuadros nº 8 y 9 hemos llegado a los siguientes valores:

12-cetoesteroides en distintas etapas fisiológicas de la mujer.-

Niñez (Hasta 12 años)

Término medio aritmético = 1,73

δ = 0,257

δ' = 0,114

C_V = 14,8 %

Adolescencia (de 12 a 18 años)

Término medio aritmético = 5.11

δ = 1,375

δ' = 0,61

Cv = 26,9 %

Madurez sexual (de 18 a 45 años)

Término medio aritmético = 7,20

δ = 1,04

δ' = 0,29

Cv = 14,4 %

Climaterio (de 46 años en adelante)

Término medio aritmético = 4.83

δ = 1,451

δ' = 0,48

Cv = 30 %

Si consideramos que la variabilidad fisiológica puede ser dos veces el Error cuadrático medio (Quiroga y col. 1950)el valor promedio de excreción de 17-cetoesteroides calculados en Dhidroandrosterona,será para las distintas etapas de la vida femenina el siguiente:

Niñez :

Valor promedio de Excreción: 1,73 ± 0,51

De manera que la excreción puede variar entre : 1,22 y 2,24 mgrs/24 horas

Adolescencia :

Valor promedio de excreción: 5,11 ± 2,77

Variación entre : 2,36 y 7,86 mgr / 24 horas

Madurez formal :

Valor promedio de exoreción: 7,20 ± 2,08

Variación entre: 5,13 y 9,28 mgrs /24 horas

Climaterio:

Valor promedio de exoreción: 4,83 ± 2,90

Variación entre: 1,93 y 7,73 mgrs /24 horas

Valores de 17-cetoesteroides hallados en el curso del embarazo.-

En el cuadro 10,figuran los valores de 17-cetoesteroides urinarios excretados por 67 mujeres con embarazo normal.La recolección de la orina se verificó en distintos meses de la gesta.-

El término medio aritmético (T.M.A.) total de las 67 determinaciones fué de 10,690 mgrs/24 horas.-

Para el 1er.Trimestre del Embarazo el T.M.A.,en 6 casos,fué de 13,38 mgr/24 horas.Para el 2º Trimestre del Embarazo el T.M.A. en 15 casos,fué de 8,61 mgr/24 horas.Para el 3er.Trimestre del Embarazo ,el T.M.A., en 38 casos fué de 10,03 mgr/24 horas.-

El cuadro nº 11,refleja los valores de 17-cetoesteroides urinarios obtenidos en gestantes en los últimos días del embarazo.Para 8 de ellas,que dieron a luz criaturas de sexo femenino,el T.M.A.de sus 17-cetoesteroides fué de 11,75 mgr/24 horas.-

Para los 12 casos restantes que dieron a luz criaturas de sexo masculino, el T.M.A. fué de 10,51 mgrs/24 horas.-

Cifras que no permiten sacar ninguna conclusión en lo referente a 17-cetoesteroides maternos y sexo del futuro nor.-

los valores para el embarazo,expresados en los cuadros 10 y 11 ,nos ofrecen cifras apreciablemente superiores a las cifras normales,encontradas con nuestro método en mujeres normales,sexualmente maduras.-

<u>17-Cetoesteroides urinarios neutros en diversos estados patológicos de la mujer.-</u>

Agruparemos los distintos casos cuyos análisis hemos verificado en:

a) Enfermedades Hipofisarias

b) Enfermedades Corticoadrenales

c) Enfermedades Tiroideas

d) Hirsutismo

e) Enfermedades del ovario

f) Otras enfermedades.-

Los cuadros respectivos,nos señalan las cifras arrojadas para cada uno de estos grupos de afecciones.-

a) <u>Enfermedades Hipofisarias.-</u>

<u>Hipo-pituitarismo: Acromegalia</u>: los valores hallados por los distintos autores,muestran grandes variaciones en la cetoesteroiduras de estos enfermos.Desde cifras bajas hasta valores altos pasando por la normalidad.-

En el <u>Hipopituitarismo :Síndromes de Simmonds y Síndrome de Sheehan</u>,los valores son bajos.-

En los casos de tumores en la hipófisis o regiones a-

natómicamente vacías,generalmente se observan estados de hipofunción glandular,que lleva aparejada cetoesteroiduros baja,que puede normalizarse después de extirparse el tumor.-

La Diabetes Insípida : no ofrece variaciones marcadas en los 17-cetoesteroides urinarios.-

b) Enfermedades corticoadrenales.-

Hipofunción cortico adrenal: Enfermedad de Addison o Insuficiencia cortico adrenal.Se observa cetoesteroiduros baja.-

Hiperfunción cortico adrenal:Síndrome de Cushing o Hiperplasia cortico -adrenal.-

En el Síndrome de Cushing pueden registrarse grandes variaciones desde datos sub-normales,hasta valores altos,pasando por las cifras normales.-

En el Síndrome Adrenogenital se observan datos elevados.Una de las hipótesis que explica este fenómeno es que la glandula adrenal está inhibida en este síndrome, a liberar 11 - oxiesteroides. Mientras tanto,la hipófisis al no tener el freno ,representado por los glucocorticoides,liberaría ACTH en mayor proporción y este sería el responsable de la hiperproducción de 17-cetoesteroides por el estímulo que ejercería sobre la zona reticular de la corteza adrenal.-

c) Enfermedades Tiroideas.-

Hipotiroidismo: ofrece generalmente cetoesteroiduros bajas.-

En el Mixedema algunos autores han registrado cifras bajas,otros valores normales.-

Hipertiroidismo : las cifras sub-normales que generalmente se encuentran en esta enfermedad,no son tan constantes como en los ca-

sos de hipofunción glandular.-

d) Hirsutismo o Hipertricosis:

Generalmente está acompañado de disjunciones de la corteza adrenal como hiperplasia,tumores benignos o malignos,S. de Cushing o S.Adronogenital.También puede estar acompañado con afecciones del lóbulo anterior de la hipófisis (acromegalia) y del ovario (arrenoblastoma,lutoma,quistes de ovario).En estos casos con alteraciones hormonales evidentes,el hirsutismo arroja casi siempre cifras de excreción elevadas.-

En los casos de hirsutismo sin causa hormonal o idiopáticos o en aquellos casos debidos a factores constitucionales o raciales,los valores son normales.-

e). Enfermedades del ovario.-

Hipofunción ,Síndrome de Infantilismo y ovario rudimentario.-

Aún no está definitivamente probado que el ovario tenga influencia sobre la cetoesteroidurea.-Aunque en potencia deba consignarse,que el ovario es capaz de producir andrógenos ya que posee en el hilio,células,muy parecidas a las células de Leydig.

En el ovario rudimentario,generalmente la cetoesteroidurea es sub-normal.-

En las alteraciones menstruales,no hay mayores variantes.-

Ciertos tumores de ovario como los Arrenoblastomas dan valores bajos,normales o altos.-

En el ovario poliquístico generalmente las cifras son altas.-

f) Otras enfermedades.-

Stress: acepción creada por Selye que se refiere a la resistencia al agotamiento o sea las modificaciones que se observan en individuos sometidos a esfuerzos o injurias variadas de orden material o moral.-

Estos factores provocan una reacción o respuesta de las glándulas adrenales,con hiperactividad o hipersecreción seguida a veces de hiposecreción .Es la llamada "Reacción de Alarma" cuyo cuadro se conoce como "Sindrome de adaptación".-

La hiperactividad corticoadrenal originada por el "Stress" provoca un aumento en la excreción de 17-cetoesteroides y otros corticoesteroides.

Esta observación de la influencia del "stress"sobre la excreción de 17-cetoesteroides advierte de la necesidad de no dar significación definitiva a pequeñas variaciones en la excreción de 17-cetcesteroides mientras no se pueda descartar la posibilidad de uninfluencia por estos factores.-

Enfermedades Infecciosas.-

Artritis Reumatoidea y Gota: Generalmente los datos son sub-normales

Afecciones de la piel como lupus Eritematoso,los datos son bajos.-

En el Acné hemos hallado valores normales.-

Hipertensión: pueden ser sub-normales,normales o altos.-

Diabetes : sub-normales o normales.-

Obesidad: normales

Cancer: Algunos tipos de neoformaciones como las ya referidas, producen aumentos.-

los cánceres no hormono-productores pueden influir indirectamente, provocando descensos.-

La valoración de 17-cetoesteroides pueden ser de valor como control de las extirpaciones de las neo-formaciones.-

CUADRO Nº 8

Etapa de la Vida Femenina -	Edad	17-Cetoesteroides Neutros totales en orina de 24 hrs.	Término Medio Aritmético
NIÑEZ (Nacimiento a 12 años)	1	--	1,73
	2	--	
	3	--	
	4	0,75 mgrs.	
	5	0,83 mgrs.	
	7	1,50 mgrs.	
	8	2,43 mgrs.	
	9	2,50 mgrs.	
	11	2,36 mgrs.	
ADOLESCENCIA (12 a 18 años)	12	3,75 mgrs.	5,21
	13	3,58 mgrs.	
	14	5,12 mgrs.	
	15	6,10 mgrs.	
	16	5,20 mgrs.	
	17	6,01 mgrs.	

CUADRO Nº 9

Etapa de la Vida Femenina -	Edad	17-Cetoesteroides Neutros totales - en orina de 24 hrs.	Término Medio Aritmético
MADUREZ SEXUAL (18 a 45 años)	18	7,00	7,20
	20	6,00	
	21	7,70	
	22	6,30	
	25	8,20	
	27	8,80	
	30	8,00	
	33	6,85	
	35	6,75	
	36	6,65	
	37	7,00	
	40	6,85	
	43	8,16	
	44	7,01	
CLIMATERIO (46 años en adelante)	45	5,16	4,83
	47	6,17	
	48	7,31	
	50	6,30	
	55	4,20	
	56	5,08	
	59	3,95	
	60	4,05	
	70	3,12	
	75	2,04	

CUADRO Nº 10

17- CETOESTEROIDES NEUTROS TOTALES EN EL EMBARAZO NORMAL

Orden Nº	Fecha	Datos	Edad	Mes del Embarazo	Miligramos	17-Cetoesteroides expresados/24 hrs.
1	15-XII-0	J.de R.	25	1º	1400	10,44
2	4-I-1	P.de H.	26	1º	1020	8,67
3	21-XII-0	M.de R.	30	2º	1120	14,36
4	27-I-51	J.de B.	25	2º	1290	13,33
5	24-II-51	P.de H.	27	2º	1020	11,47
6	1-II-51	M.de R.	30	3º	2080	10,12
7	6-V-51	D.de G.	23	4º	1320	9,00
8	6-IV-51	P.de H.	27	4º	1150	8,05
9	4-I-51	I.de S.	26	4º	1000	10,25
10	4-I-51	C.de M.	23	4º	700	11,25
11	7-4-51	M.de R.	30	5º	1300	11,37
12	27-I-51	E.de M.	30	5º	850	9,35
13	27-I-51	A.de T.	30	5º	1040	6,24
14	17-V-51	P.de H.	27	5º	1400	5,95
15	19-XV-0	D.de M.	21	6º	930	11,46
16	26-XII-0	D.de M.	27	6º	1000	8,75
17	30-I-51	A.E.P.	21	6º	920	8,32
18	30-I-51	R.de G.	31	6º	920	7,59
19	30-0-51	M.de T.	33	6º	1520	6,46

CUADRO Nº10

17-CETOESTEROIDES NEUTROS TOTALES EN EL EMBARAZO NORMAL

Orina Nº	Fecha	Datos	Edad	Mes del Embarazo	Diuresis	17-Cetoesteroides agrs./24 hrs.
20	26-XII-51	H.de H.	25	6º	1000	8,75
21	23-V-51	I.de R.	25	6º	2000	6,50
22	26-VII-1	P.de H.	27	7º	2020	7,07
23	17-V-1	E.de R.	30	7º	1500	6,37
24	26-XII-0	R.de P.	24	7º	580	7,25
25	30-I-51	A.de D.	25	7º	1320	16,5
26	30-I-1	O.de L.	22	7º	640	10,08
27	24-4-1	C.de C.	30	7º	1580	9,48
28	30-XII-0	B.de R.	26	8º	950	8,07
29	30-XII-0	R.de O.	22	8º	885	11,27
30	30-XII-0	R.de P.	29	8º	865	9,51
31	4-I-1	E.de O.	25	8º	885	11,94
32	1-II-1	H.de E.	18	8º	950	8,53
33	12-7-1	I.de R.	25	8º	1820	10,92
34	23-6-1	E.de R.	30	8º	1880	4,70
35	21-XII-0	R.de E.	17	9º	1065	9,58
36	30-XII-0	H.de E.	31	9º	1100	11,0
37	30-XII-0	H.de P.	21	9º	700	9,97
38	21-XII-0	E.H.	17	9º	1040	14,04

CUADRO N°10

17-CETOESTEROIDES NEUTROS TOTALES EN EL EMBARAZO NORMAL

Orina N°	Fecha	Datos	Edad	Mes del Embarazo	Diuresis	17-Cetoesteroides mgrs/24 hrs.
39	7-XII-0	O.de A.	29	9°	1340	12,39
40	27-I-1	N.de M.	24	9°	990	9,90
41	8-XI-1	V.de T.	38	9°	1330	9,31
42	10-II-1	R.R.	24	9°	1300	8,45
43	10-II-1	A.P.	35	9°	1190	9,81
44	15-II-1	L.B.D.	18	9°	1800	23,85
45	4-I-1	D.de O.	29	9°	940	17,39
46	4-I-1	N.de M.	30	9°	980	12,49
47	25-I-51	I.de S.	21	9°	1540	18,48
48	25-I-5	M.L.B.	16	9°	1430	15,73
49	27-I-51	L.de L.	21	9°	1840	13,80
50	30-I-51	S.de P.	25	9°	520	5,20
51	30-I-51	M.de R.	24	9°	840	9,24
52	30-I-51	A.de C.	20	9°	1350	7,76
53	1°-II-51	I.de M.	20	9°	1080	10,80
54	1°-II-51	M.de O.	18	9°	1100	8,52
55	3-II-51	D.de B.	24	9°	1580	14,22
56	8-II-51	R.de C.	35	9°	930	6,97
57	28-VI-51	C.de C.	30	9°	1900	8,55

CUADRO Nº 11

17-CETOESTEROIDES NEUTROS TOTALES EN LA CESTANTE A TERMINO
RELACION CON EL SEXO DEL RECIEN NACIDO

Orina Nº	Fecha	Datos	Edad	Diuresis	17-Cetoesteroides mgrs/24 hrs	Sexo del Recien Nacido
1	21-XII-50	E.M.	17	1040	14,04	♀
2	7-XII-50	O.de A.	29	1340	12,39	♀
3	21-XII-50	R.de E.	17	1065	9,58	♀
4	30-XII-50	M.de M.	31	1100	11,00	♀
5	30-XII-50	M.de P.	21	700	9,97	♀
6	4-I-51	D.de O.	29	960	17,59	♀
7	4-I-51	M.de M.	30	980	12,49	♀
8	25-I-51	I.de S.	21	1540	18,48	♀
9	25-I-51	M.L.B.	16	1430	15,73	♀
10	27-I-51	L.de L.	21	1840	13,80	♀
11	27-I-51	E.de M.	24	990	9,90	♀
12	30-I-51	S.de P.	25	520	5,20	♀
13	30-I-51	M.de R.	24	840	9,24	♀
14	30-I-51	A.de C.	20	1550	7,76	♀
15	1-II-51	I.de M.	20	1080	10,80	♀
16	1-II-51	M.de O.	18	1100	8,52	♀
17	8-II-51	R.de C.	35	930	6,97	♀
18	8-II-51	V.de E.	38	1380	9,31	♀
19	15-VII-51	P.de M.	27	1450	8,42	♀
20	5-VIII-51	I.de R.	25	1600	9,20	♀

CUADRO Nº 12

17-CETOESTEROIDES URINARIOS NEUTROS EN ENFERMAS HIPOFISARIAS

Orina Nº	Fecha	Datos	Edad	Médico o Servicio	Diagnóstico y Observaciones	17-Cetoesteroides mgrs/24 hrs
1	2-X-1	R.A.	43	Estid	Diabetes Insípida	2,64
2	15-9-2	S.de S	38	Sala III	" "	4,65
3	17-9-2	"	"	"	" "	6,04
4	12-I-3	A.LL.	30	Nutrición	Diabetes Insípida	4,12
5	28-V-3	Sala X	22	Estid	Enanismo Hipofisario	1,23
6	20-V-5	J.IXC36	25	"	" "	1,58
7	25-XI-[illegible]	J.D.	19	Nutrición	" " y atrofia de ovario	1,0

CUADRO Nº 13

17-CETOESTEROIDES URINARIOS NEUTROS EN ENFERMAS CON HIPOFUNCION CORTICOADRENAL

Orina Nº	Fecha	Datos	Edad	Médico o Servicio	Diagnóstico y Observaciones	17-Cetoesteroides mgrs/24 hrs
1	20-9-1	E.F.	29	Estil	Addison	0,01
2	20-9-1	R.B.	18	Schaponik	"	0,60
3	20-XII-3	S.deB	37	Nutrición	"	1,12
4	7-I-4	"	"	"	Cortisonoterapia Control	4,37
5	28-II-4	"	"	"	"	3,0
6	29-VII-4	"	"	"	"	4,5
7	29-XI-4	"	"	"	"	4,89
8	18-X-4	E.R.	30	Nutrición	Addison	0,71
9	22-3-4	S.deD	38	"	"	1,20
10	6-4-4	"	"	"	Cortisonoterapia	4,20
11	19-3-3	S.deK	43	Cieza	Insuficiencia adrenal	1,42
12	30-II-5	S.deM	43	Nutrición	" "	2,58
13	25-V-7	T.M.	25	Estensoro	" "	2,50
14	2-IV-6	S.de A	34	Nutrición	Addison	0,84
15	8-V-6	"	"	"	"	0,60
16	15-VI-6	"	"	"	ACTH 1a.muestra	1,47
17	15-VI-6	"	"	"	2a.muestra	1,44
18	15-VI-6	"	"	"	3a.muestra	2,55
19	15-VI-6	"	"	"	4a.muestra	2,80
20	28-VIII-6	"	"	"	Control	0,97

CUADRO Nº 14

17-CETOESTEROIDES URINARIOS NEUTROS EN ENFERMAS CON HIPERFUNCION CORTICO ADRENAL

Orina Nº	Fecha	Datos	Edad	Médico o Servicio	Diagnóstico y Observaciones	17-Cetoesteroides mgrs/24 hr
1	7-II-5	A.J.	22	Caino	Cushing	10,5
2	29-VIII-5	S.F.	10	H.Niños	"	1,57
3	21-XI-4	H.R.	26	Schaponik	Hiperplasia Cortisohoterapia	17,25
4	20-XII-4	"	"	"	Control	10,50
5	23-IV-6	Sra de L	27	Nutrición	Sindrome Adreno-genital Cortisonoterapia	24,08
6	26-VI-6	"	"	"	Control	22,31
7	25-VII-6	"	"	"	"	12,00
8	25-VIII-6	"	"	"	"	5,10
9	5-IX-6	"	"	"	"	6,80
10	14-IX-6	"	"	"	"	12,86

CUADRO Nº 15

17-CETOSSTEROIDES URINARIOS NEUTROS EN ENFERMEDADES TIROIDEAS

Orina Nº	Fecha	Datos	Edad	Médico o Servicio	Diagnóstico y Observaciones	17-Cetosteroides mgrs/24 h
1	3-VII-1	A.S.	25	Schaposnik	Hipotiroidismo	6,60
2	5-X-1	M.C.	38	Estid	"	0,67
3	15-6-5	M.L.	53	Nutrición	"	1,66
4	13-3-1	SX-C.3	40	Estid	Hipertiroidismo	7,13
5	13-IX-6	SX-C.9	22	"	"	6,50
6	21-XI-5	B.O.	31	Nutrición	Hipertiroidismo Adenomatóxico	8,91

CUADRO Nº 16

17-CETOESTEROIDES URINARIOS NEUTROS EN ENFERMAS AFECTADAS DE CANCER ANTES Y DESPUES DE LA ADRENALECTOMIA

Orina Nº	Fecha	Datos	Edad	Diagnóstico y Observaciones	17-Cetoesteroides mgrs/24 horas
1	20-III-3	A.de D.F	38	Metástasis lumbar de cancer de mama	8,48
2	30-V-3	"	"	Post adrenalectomía izq Cortisonoterapia	3,70
3	20-VII-3	"	"	Post adrenalectomía izq. y derecha Cortisonoterapia	1,10
4	1º-X-3	"	"	Control alejado	9,53
5	30-X-3	"	"	Suspendo cortisona	2,90
6	6-IV-4	"	"	Control alejado	4,20
Fallece a los 14 meses por insuficiencia cortico adrenal.					
7	20-VIII-3	A.S.de B	42	Metástasis en cadera por cáncer de mama	7,60
8	23-IX-3	"	"	Post adrenalectomía izq Cortisonoterapia	2,99
9	24-II-4	"	"	Control alejado	8,79
10	3-IV-4	"	"	Post adrenalectomía der.	3,13
11	6-VII-4	"	"	Control alejado	4,04
12	15-XI-4	"	"	" "	2,05
Fallece a los 45 meses por metástasis cerebral.					

CUADRO Nº 16 b

17-CETOESTEROIDES URINARIOS NEUTROS EN ENFERMAS AFECTADAS DE CANCER ANTES Y DESPUES DE LA ADRENALECTOMIA

Orima Nº	Fecha	Datos	Edad	Diagnóstico y Observaciones	17-Cetoesteroides mgrs/24 horas
13	13-IX-4	E.H.de S	40	Metástasis en hueso i-líaco por cancer de mama	7,56
14	4-XI-4	"	"	Post.adrenalectomía izq Cortisonoterapia	0,84
15	22-XII-4	"	"	Post.adrenalectomía der	0,65

No se hicieron más controles por vivir en Salta. La última noticia de la enferma fue en noviembre de 1956.

16	26-X-54	C.P.de Z	52	Metástasis en columna lumbar por cáncer de mama	5,17
17	11-II-55	"	"	Post.adrenalectomía izq Cortisonoterapia	1,56
18	30-III-55	"	"	Control	1,25

Fallece por metástasis que siguieron evolucionando, post-adrenalectomía

Según el Dr. A.Wilks que fue el cirujano que adrenalectomizó a - todas estas enfermas, en este último caso el fracaso fue completo, lo que se debió en parte a las malas condiciones físicas de la enferma.-

CUADRO Nº 17

17-CETOESTEROIDES URINARIOS NEUTROS EN EL HIRSUTISMO FEMENINO

Orina Nº	Fecha	Datos	Edad	Médico o Servicio	Diagnóstico y Observaciones	17-Cetoesteroides mgrs/24 hr
1	19-XI-3	G.de G	25	Nutrición	Hirsutismo	11,37
2	31-VIII-3	J.Y.	18	"	"	15,62
3	22-IV-3	C.H.	16	Schaposnik	"	3,00
4	29-VIII-3	S.L.	18	"	"	9,03
5	13-X-3	F.T.	20	Estiú	"	12,60
6	18-VII-3	E.G.	21	"	"	9,75
7	23-XII-3	A.G.	24	Montaña	"	11,54
8	24-VIII-3	S.G.	27	Vanni	"	10,31
9	20-IX-3	S.deM.	30	Cieza	"	7,87
10	9-II-3	M.P.	28	"	"	18,00
11	24-VIII-3	E.T.	19	Caino	"	7,97
12	9-VIII-4	D.D.	23	"	"	10,45
13	30-VI-4	B.C.	19	Nutrición	"	6,78
14	2-VI-4	N.G.	22	Maternidad	"	13,80
15	4-IX-4	N.I.	32	Eiras	"	12,37
16	30-IX-4	E.T.	24	Maternidad	"	24,37
17	12-VII-4	S.S.	25	Schaposnik	"	11,25
18	2-IV-5	A.R.C	33	Nutrición	"	5,00
19	11-III-5	A.Z.	19	H.Niños	"	5,07
20	30-IV-5	S.de C	26	Bearzi	"	12,30
21	29-IX-5	D.T.	24	Schaposnik	"	12,95

CUADRO Nº 17

17-CETOESTEROIDES URINARIOS NEUTROS EN EL HIRSUTISMO FEMENINO

Orina Nº	Fecha	Datos	Edad	Médico o Servicio	Diagnóstico y Observaciones	17-Cetoesteroides mgrs/24 hr
22	26-IV-5	S.S.	29	Estensoro	Hirsutismo	7,5
23	31-VIII-5	E.G.	19	"	"	3,45
24	20-IX-5	M.S.	21	"	"	14,50
25	28-II-5	G.B.	25	"	"	4,67
26	5-VI-6	A.S.	25	Schaposnik	"	2,45
27	11-VII-6	E.G.	16	Estiú	"	6,40
28	1-V-6	G.deM.	20	Caino	"	6,25
29	7-V-6	S.B.	14	"	"	5,60
30	15-V-6	J.S.	17	"	"	3,50
31	5-II-6	S.deC	37	Cabarrou	"	10,80
32	5-V-6	J.M.M.	14	Nutrición	"	5,21
33	5-V-6	M.deA.	33	"	"	10,87
34	10-V-6	E.R.B.	24	"	"	6,60
35	27-VI-6	J.Z.	22	Elras	"	4,37
36	10-V-7	R.deM.	25	Estensoro	"	4,50
37	15-II-7	A.V.	22	H.Español	"	8,17
38	3-IV-7	J.N.	18	Touceda	"	5,07
39	17-VIII-7	V.B.	28	Grinfeld	"	6,44
40	26-IX-7	E.Z.	22	Montescid	"	9,75

Término Medio Aritmético: 8,94

CUADRO Nº 18

17-CETOESTEROIDES URINARIOS NEUTROS EN ENFERMEDADES DEL OVARIO

Orina Nº	Fecha	Datos	Edad	Médico o Servicio	Diagnóstico y Observaciones	17-Cetoesteroides mgrs/24 hr.
1	17-XI-2	SAA.	29	Schaposnik	Ovario poliquístico	12,0
2	4-X-2	C.P.	23	"	Dismenorrea	3,91
3	26-XII-2	M.M.	16	Nutrición	Ovario rudimentario	2,35
4	13-II-3	A.deG.	38	Schaposnik	Dismenorrea con - Polimenorrea	3,75
5	25-III-3	A.F.	21	Caino	Insuf. ovárica	3,24
6	7-II-3	S.deF.	28	Schaposnik	Monstrunciones irregulares	10,24
7	15-V-3	S.C.	18	"	Oligo-Dismenorrea	6,80
8	21-X-3	I.G.	36	Caino	Insuf.ovárica	8,53
9	25-X-3	S.deR.	34	Schaposnik	Oligo-hipomenorrea	1,27
10	5-VII-3	S.deG.	29	"	Dismenorrea	7,14
11	4-V-3	R.N.M.	4	H.Niños	Precocidad sexual	1,30
12	22-VII-3	A.L.	12	"	Sindrome de Turner	0,33
13	23-VII-3	R.A.	16	"	" " "	0,94
14	21-X-3	I.L	21	Nutrición	Insuficienc.ovárica	6,58
15	14-I-4	C.R.	29	"	Ovario rudimentario	5,25
16	16-VII-4	A.deS.	34	"	Insuf. ovárica	2,98
17	22-IX-4	A.deP.	28	Schaposnik	Polimenorrea	7,12
18	10-XII-4	S.deG.	40	"	Hipermenorrea	4,95
19	20-IX-4	N.deC.	35	"	Dismenorrea	6,50
20	2-IV-5	J.L.	24	"	Dismenorrea	5,96

CUADRO Nº 18

17-CETOESTEROIDES URINARIOS NEUTROS EN ENFERMEDADES DEL OVARIO

Orina Nº	Fecha	Datos	Edad	Médico o Servicio	Diagnóstico y Observaciones	17-Cetoesteroides mgrs/24 hr
21	4-IV-5	A.P.	27	Schaposnik	Hipomenorrea	11,49
22	18-V-5	S.C.	13	"	Hipomenorrea	9,11
23	30-IV-5	E.A.	40	"	Hipomenorrea	5,07
24	2-XI-5	S.G.	27	"	Dismenorrea	5,58
25	25-XI-5	S.deD.	30	Durán	Dismenorrea	3,68
26	2-XI-6	M.S.	21	Caino	Insuf.ovárica	6,55
27	15-IV-7	S.M.	27	"	" "	2,40
28	25-V-7	S.P.	24	Cieza	" "	3,37
29	11-II-5	M.S.	25	Caino	" "	4,63
30	25-IV-5	E.T.	33	"	Amenorrea por sufismo por - Andrógenos	1,20
31	26-IV-5	M.B.	24	"	Insuf.ovárica	4,32
32	5-V-5	S.V.	33	"	" "	4,40
33	18-V-5	A.C.	36	"	" "	4,75
34	27-9-5	S.M.A.	24	"	Agenesia ovárica	2,14
35	27-IX-5	M.deA.	30	"	Amenorrea secundaria	3,10
36	12-VIII-5	E.deS.	22	"	Hipermenorrea	4,27
37	10-I-6	H.S.	32	"	Insuf.ovárica	8,94
38	5-II-6	S.deV.	40	"	Menopausia precoz	3,99
39	7-VI-6	D.R.	15	"	Amenorrea secundaria	2,85
40	15-XII-6	S.T.	23	"	Insuf.ovárica	6,07

CUADRO Nº 19

17-CETOESTEROIDES URINARIOS NEUTROS EN EL ACNE

Orina Nº	Fecha	Datos	Edad	Médico	Diagnóstico y Observaciones	17-Cetoesteroides mgrs/24 hr.
1	16-XII-2	D.A.	17	Cueto	Acné	7,00
2	16-XII-2	E.M.	15	"	"	3,12
3	17-XII-2	E.S.J.	14	"	"	8,10
4	24-XII-2	N.E.G.	19	"	"	8,44
5	12-I-3	E.B.	21	"	"	6,50
6	16-I-3	B.R.	23	"	"	8,79
7	16-I-3	D.L.A.	17	"	"	9,10
8	29-IX-3	M.N.C.	21	"	"	12,78
9	8-X-3	R.A.S.	16	"	"	6,50
10	8-X-3	M.M.G.	19	"	"	6,23
11	10-XI-3	T.V.	21	"	"	7,83
12	28-II-4	E.G.L.	20	"	"	5,81
13	21-VI-4	M.E.P.	16	"	"	8,70
14	18-VI-4	E.F.	17	"	"	3,60
15	22-VI-4	E.A.	16	"	"	9,87
16	13-VIII-4	M.S.	19	"	"	5,81
17	19-VII-4	J.L.	21	"	"	11,87
18	6-7-4	C.A.	19	"	"	8,26
19	17-VIII-4	M.de P.	20	"	"	7,99
20	13-X-4	O.T.	17	"	"	5,94

Termino Medio Aritmético: 7,61 mg/24h

CUADRO Nº 20

17-CETOESTEROIDES URINARIOS NEUTROS EN LA ARTRITIS REUMATOIDEA

Orina Nº	Fecha	Datos	Edad	Médico	Diagnostico - Observaciones	17-cetoesteroides mgr/24 hs.
1	9-11-0	S.de S.	62	Dr. Schaposnik	Art. Roumat.	6,56
2	18-11-1	S.de D.	51	" "	" "	6,21
3	26-10-1	C.de M.	47	" "	" "	3,63
4	17-7 -2	S.de C.	39	" "	" "	5,25
5	8-11-1	L.de F.	54	" Estiú	" "	2,00
6	28-2-2-	M.de A.	47	" "	" "	5.37
7	20-9-1	M.de R.	45	" "	" "	4.20
8	1-3-5-	P.de C.	59	" Schaposnik	" "	3.64
9	15-3-5	E.O.	50	" "	" "	1.35
10	17-3-5	N.M.	58	" "	" "	1.05
11	19-4-5	D.E.	56	" "	" "	1.22
12	21-5-5	E.C.	64	" "	" "	1.95
13	19-6-5	A.E.	42	" "	" "	1.81
14	16-4-5	S.de M.	55	" "	" "	2.65
15	23-8-5	A.S.	42	" "	" "	1.75

Término Medio Aritmético ..... : 3,24

CONCLUSIONES

Las cifras de excreción de los 17-cetoesteroides neutros, constituye en la mujer una medida indirecta, de la actividad córtico adrenal. Decimos indirecta, porque la ceto-esteroi duves como la mayoría de las pruebas hormonales, están influencia das por otros factores, que repercuten en la interpretación clínica final a que se llega por dichas pruebas.

Las dosificaciones hormonales no han entrado todavía en forma amplia, en la práctica diaria. El médico se guía por los síntomas y signos que arroja el examen del paciente, alegando complejidad y poca exactitud a las técnicas de dosificación hormonal.

Sin embargo en el estudio de un enfermo endócrino, las valoraciones hormonales, del tipo que nos ocupa en el presente trabajo, van a permitir encarar su diagnóstico con mayor base funcional, y así también su tratamiento. Las cifras de 17-ceto-esteroides urinarios neutros serán un aporte más en el estudio clínico del enfermo, sino definitivo puede ser de orientación y a veces pueden dar una confirmación formal del diagnóstico.

Es fundamental establecer la tasa fisiológica media de excreción, para el método utilizado, antes de sacar ninguna conclusión con los valores hallados en los distintos estados patológicos.

Las determinaciones de 17-cetoesteroides urinarios neutros tienen valor en el estudio de las enfermedades hipofisarias donde si bien las cifras son muy variables, pueden ser de utilidad para diagnosticar un hipopituitarismo anterior.

Su estudio adquiere mayor significación en las enfermedades de la corteza adrenal en la mujer. Donde se encuentran

sistemáticamente valores bajos o ausentes en el Addisón y muy - disminuídos en la Hipofunción córtico-adrenal.

En la Hiperfunción adrenal no son de valor para el CUSHING, pero sí en las Hiperplasias y síndrome Adrenogenital donde se registran siempre valores altos.

En las enfermedades de la glándula tiroides son ú tiles en el Hipotiroidismo donde casi siempre estén disminuídos.

En el hirsutismo de orden endócrino están elevados, no así en el idiopático, donde son normales o sub-normales.

No constituyen datos de valor, en las afecciones del ovario.

El "stress", cualquiera sea su índole provoca aumentos en la exoreción de estos compuestos, por lo que conviene tenerlo siempre en consideración, en la interpretación de las cifras obtenidas, sobre todo cuando las variaciones son pequeñas.

Debemos hacer una consideración especial sobre las enfermedades del colágeno, del tipo de la Artritis Reumatoidea. Se ha demostrado que en ellas existen anomalías de la función hipofiso adrenal que se traducen por cetoesteroidurea baja, y también una distribución anormal de los diferentes tipos de 17-cetoesteroides urinarios excretados.

Diversos tipos de cáncores hormono productores provocan aumentos de la cetoesteroidurea, son aquellos que toman la corteza adrenal (tumores corticoadrenales) o el ovario (arrenoblastomas o de las células de la granulosa)

Donde se constituyen en determinaciones de incuestionable valor, es en el control de la hormoterapia sexual y específicamente en el control de la terapéutica con corticoesteroides o sus modernos derivados. Podemos decir que desde la primera comunicación de HENCH y colaboradores en 1949, sobre la eficacia de -

la cortisona en la artritis reumatoidea se inició una nueva era en la medicina y desde entonces la cortisona, hidrocortisona, sus derivados y el ACTH se han empleado a modo de ensayo, en casi todos los estados clínicos imaginables, al principio en forma totalmente empírica, modernamente en forma más racional haciendo uso a las valoraciones hormonales, que como lo objeto de nuestro trabajo constituye un valioso elemento de control en el uso clínico de la terapéutica hormonal.

Las pruebas para medir la reserva córtico adrenal como la de THORN, han visto acrecentada su utilidad, con la determinación simultánea antes y después de la administración del ACTH, durante 48 horas, de los 17-cetoesteroides urinarios excretados.

El método seguido por nosotros es accesible y ha demostrado dar resultados comparables.

Los promedios de excreción de 17-cetoesteroides urinarios hallados por métodos químicos, empleando la Reacción de ZIMMERMANN, son generalmente más altos que los hallados por los métodos biológicos y en general las cifras establecidas varían bastante de acuerdo a la técnica utilizada.

Con el método seguido por nosotros los valores son ligeramente inferiores a otras técnicas colorimétricas. Creemos que el hallazgo de valores más bajos, son más correctos porque se acercan más a los obtenidos por el método biológico.

B I B L I O G R A F I A

ABELIN I. and P.FISTER H.,Ther Umsch.13,250-4, 1956 (184)

AST K.R. and KELLER M., Geburts -U.Frauenkeilk 14,180-9-1954 (196)

ACEVEDO H.,ATRIA A.,Ciencia e Investigacion,6,106,1950 (5,7,11)

ALBERT S.,COHEN J.,HEARD R.D.H.and LEBLOND C.P.," Am.Assoc.Cancer Research 38 th.Ann.Meeting May 16-17,1947;Cancer Research 7,709, 1949 (113)

ANDERSEN D.H. and KENNEDY H.S.,J.Physiol. 76,247,1932 (82)

ANDERSON E.E.,PAGE E.,and LI C.H.,Endocrinology 41,105,1947 (157)

APPEL W., Z.Ges.Exp.Med. 118,269-73,1952; s/Exc Méd 7,774,1953 - (177)

BAILEY F.R., Histología 11a.Edic.Bs.As.1946-pag.795 (84,80,86,90

BARTTER F.C. ,Science 121,521,1955 (47)

BAULIEU E.and CRESPY O.,Acta Endocrinol.21,115,1956 (176)

BAXTER J.S., J.Anat.80,139-46,1946 (100)

BENNET H.S., Am.J.Anat.67:151,1940 (91)

BENCA R.S. and HOWARD E.,Bull.Johns Hopkins Hosp. 86, 200-13 - 1950. (97)

BERGNA L.J.,SCHAPOSHIK F.,GUTIERREZ A.,P.Méd.Arg. 26-1358 - 1954 (206)

BERGNER C.E. et DEANS H.W.,Annales d'Endocrinologie ,10-82- 1949. (152)

BERNAL J.D.,en A.Symposium on Steroid Hormones Ed. G.F.MARRIAN, 1950,pag.3. (6)

BICHEL G.,Schweiz.Med.Wschr. 2,25,1951 (119,124)

BISHOP P.M.F.,Recent Advances in Endicrinology 7a.Edic. London 1954,pag.12 y pag.319 (36,37,38,211,215,218,227,259)

BLACKMAN Jr.,Bull.Johns Hopkins Hosp.78,180-214,1946 (103)

BLOCH K.,RITTENBER D., J.Biol.Chem.45,159-1945 (160)

BOLAND EDWARD. W.M.D.,The Medical Clinics.38,337,1954 (127)

BONGIOVANNI A.M.,EBERLEIN W.R.,Clin.Endoc.and Metabol. 17,238, 1957. (185)

BORELL U.,Acta Endoc.17,13-21,1964 (151)

BORGLIN N.E.,Acta Endoc.22,49-54,1956 (28)

BOSCOTT R.J. and MANDL A.M.I.,Endocrinology 6,132-6,1949 (113)

BOTELLA LLUSIA J.,Obstet. y Ginecol.Latino Amer. 11-235-43 , 1953.- (138).

BOTELLA LLUSIA J.,Fisiopatologia y clínica do las glándulas Adrenales-Madrid 1951,pág. 245-50 (95,96,139)

BOTELLA LLUSIA J.,SANTOS RUIZ A. and GOMEZ MAESTRO D.B.,Arch. Méd.expth 15,221-6-1952 (204)

BOTELLA LLUSIA J.,DEL CARMEN TORNERO M.,FERNANDEZ SANCHEZ L.,Rev. Obstet.Ginec. 10,121-6,1955 (193)

BOURNE G.and ZUCKERMAN S. J.Endocrinology 2,283-1940 (83)

BOZOVIC L.J.,Acta Yogoslaviva 5,296,1951 s/R.Bago 11,38-1952 (116)

BRAGA A.,ann.Obstet.Ginec. 74,651-67,1952 (187)

BROWN J.B. ,Lancet 268,320-3-1955 (23)

BROWN J.E., Biochem. J.60,185-93,1955 (132)

BURRIL M.W. and GREENE R.R.,Endocrinology 28,871,1941 (134)

BURROWS H.,Mc.LEOD D.H.and WARREN E.L. ,Nature 149,300,1942 (195)

BURTON R.B.,ZAFFARONI A.,KENTMANN H., J.Biolog.Chemistry 188,763-1951 (67,129)

BURTON R.B.,ZAFFARONI A.,KENTMANN H.,Journal of Biol.Chem. 188,763,1951 (67,129)

BUTENANDT A.,DANNENBAUM H.,HANICH G.and KUDSGUS H., Z.physiol. Chem. 237,57,1935 (52)

BUTENANDT A.,TSCHERING K., Z.physiol.chem. 229,1167,1934 (52)

BUTENANDT A.,KUDSGUS H.,Z.physicl.chem. 237,75,1935 (53)

BUTENANDT A.,HANISCH G.,Z.physiol.chem. 237,89:Bev.68B,1858,1935 s/c A.30: 754,1936. (54)

CALATRONI C.J.,RUIZ V.,Terapeutica Ginecológica , 6a Edic.Bs.As. 1956,pag.43 (261)

CALLOW I. and FOSTER C.L. Nature 152,536,1943. (100)

CALLOW R.K. and CALLOW H.H.,Biochem J.34,276,1940. cit.por Botella Llusia p.248.(210)

CALLOW H.H. and CROOKE A.C.,Lancet I. 464,1944 (133)

CALLOW N.H.,CALLOW R.K. and EMMENS C.W.,Biochem. J.32,1312 - 1938 (229)

CALLOW N.H.,CALLOW R.K.,EMMENS C.W. and STROUD S.W.,J.Endocrinol. 1,76,1939.- (210,229)

CAMMER B.,Nature 63,285,1949.- (113)

CANTILO E., Día Méd. 80,3,1950 (137,181)

CAÑADEL J.M., Suprarrenales,Barcelona 1953,pag.125 (1)

CAÑADEL J.M. loc.cit.pag.91 (10)

CAÑADEL J.M. loc.cit.pag.84 (7)

CAÑADEL J.M. loc.cit.pag.2. (72)

CAÑADEL J.M, loc.cit.pag.112 (33)

CAÑADEL J.M. loc.cit. Pag.263.- (161)

CAREY M.M.,VOLLMER E.P.,ZIMMER R.L.and SPENCE D.L.,Am.J.Physiol. 164,770,1951 (114)

CASTEX M.C.,SCHTEINGART M.,P.Méd.Arg. 46,2970,1951 (138,203,210)

CLAYTON G.W.,BONDIOVANNI A.M.,and PAPADATOS C.,J.Clin.Endoc.Metab. 16,693-701,1956 (241)

COLOMBO E. ,P.Méd.Arg. 31,1496,1049 (141)

COLQUE C.M. ,MAIGS S., P.Méd.Arg. 50,3384,1953 (206)

COLQUE C.M.,Semana Méd.102,230,1953 (167)

CONESTABILE E. y VOLPINO M.,Reumatismo 3,406-16,1951 (203)

COON J.W.,FAJANS S.S.,LOUIS L.H.and SELTZER H.S. J.Lab.Clin.Med. 43,79-92,1954.s/Ix Med. 8,431,1954 (169)

COOK J.W. and GIRARD A. In E.S.GORDON, A Symposium on Steroid Hormon New York,1960 Pag.5.- (17)

COSTE F.,DELBARRE F.et LAURENT F. La Presse Medic.60,809, 1952.- (128)

COON J.D.,LOUIS L.H.,FAJANS S.J.,Science 113,713,1951 (126)

COURRIER R.,Laval Méd. 18,825,1953,s/Exc.Méd. 8,38-1954 (187)

CULLEN M., Día Méd.p.164,6 XI -1956 (1)

CUATRECASAS J.y ROCAMORA J.,P.Méd.Arg.51,3103,1950 (203)

COOK E. F. y MARTIN E. W. Farmacia Practica de Remington 10 Edi. Mexico - 1953 (262)

DAMFORD,F.A.and DAMFORD H.C.,Jackson clin.Bull 16,93,1951-(177)

DAUGHADAY W.H.,JAFFE H.,WILLIAMS R.H., J.clin.endocrinol. 8,244 1948 (126,129)

DAVIS M.E. and PLOTZ E.J.,Acta Endocrinol.21,245-1956 (195)

DE LA BALZE F.A.,SCARPA C.,ARRILLAGA F., MANCINI R.E. P.Méd.Arg. 11,484,1952.- (148)

DEL CAMPO de MACHEN C/P.,Solis J.I., Rev.Asoc.Bioq.Arg. 78,460,1951 (223)

DE LA HIGUERA ROJAS J.,GALVEZ Montos J.,Rev.clin.Española, Julio de 1950.- (146)

DE GENNES L.y DELTOUR G.,La Presse Medic. 85,1751,1954 (121)

DE GENNES y DESCHAMPS ,La Presse Medic. 15,9,1951 (124)

DE GENNES L.y MATHIEU de FOSSEY ,La Presse Medic. 63,1270, de 1955 (48)

DINGEMANSE E.,DAVID K.,FREUD J.and LAQUEUR E., Z.physiol.chem.,233, 281,1935.- (53)

DINGEMANSE E., Huis int VELD L.G.,HARTOGH-KATZ S., J.Clin.endocrinol and Metabolism. 12,66,1952 (67,190)

DINGEMANSE E., Huis int VELD L.G.,and HARTOGH-KATZ S.,Nature 161, 848,1948.- (199)

DINGEMANSE E.,Huis int VELD L.G.,et HARTOGH-KATZ , J.Clin.Endocri - nol 12,66,1952 (67,190)

DI RAIMONDO V.C. and FORSHAM P.H. American Journal of Medicine 21, 321,1956.- (132,178)

DI RAIMONDO V.C. y FORSHAM P.H.,Rev.Clin. Española 64,59,1957(159)

DOBRINER K.,Exptl.Clin.Practice, 130-50,1951 (203)

DOBRINER K., J.Clin.Invest.22,950,1953 (179)

DOBRINER K.,LIEBERMAN S.and RHOADS C.P.,Cancer Research , 7,711, 1947 (199)

D'ARCO F, Rev.Fed.de Chile 70,800,1950 (34,137)

DORFMAN R.I. y EMPLEY N.A. en G.GOSKIN-Progresos de Endocrinología Clínica,Barcelona 1951,pag.220-32 (59,64,209,227)

DORFMAN R.I.,Proc.Soc.Exper.Fed. 46,739,1940 (165)

DORFMAN R.I. and MILLER A.K.,Endocrinology,46,164,1950-(199,200)

DOYLE C.and DALTON A.J.,Anat.Rec.,78,207,1940 (91)

DREYER I.J.,PEARSON J.,BARTORAK E.,Mc.GAVACK T.H., J.Clin.Endocrinol.7,705,1947 (230,243)

DURANTE C.and VALENSI G.,Comp.rend.Soc.Biol. , 146,472 , 1952 (240)

ERCAVILLA R.P. ,Laboratory nidus in Endocrine Diagnosis.Illinois 1954,pag.99 (27,224,228,229)

FELDMAN J.D. ,Anat Record,109,41,1951 (142)

FELS E.,P.Méd.Arg.,34,1670,1950 (136)

FERRARIS C.and DELLEPIANE J.C.,Minerva Ginec. , 7,433 , 1955 (138)

FIESER L.F.,FIESER M.,Natural Products Related to Phenantrene Edit.,New York,1949 (20)

FIESER L.F. in A.Symposium on Steroid Hormones,Ed.C.F.HUGGINS 1950 pag.39 (20)

FIORETTI A., Riv.Ostet.Ginec. 10,351,1955 (176)

FISHMAN L.B.andGHOLLMAN A.,Anat.Rec.78,207,1939 (91,105)

FOOLIN V.O.,Rev.A.M.A. 707,867,1954 (138, 162, 172)

FORBES A.P., ALBRIGHT F., J.Clin.Endocrinol.11,937,1951 (216)

FORBES A.P., GRISWOLD G.C. and ALBRIGHT F., Journal of Clin.Endocrinol., 3,230,1943 (128)

FORSHAW F.H., Science 106,606,1947

FORSHAW F.H., Med.Clin of North Amer.Symp.on 1951. s/Dis Med. 30, 959,1959 (153)

FOURMAN P.H., et TYLER C.W., Journal Clinic.Endocrinology,8,15, 1948: c/Ann.d'Endocrinologie ,10,90,1949 (153)

FRIEDGOOD H.B., KINDELL H.L., Endocrinology 28,237,1941 (230)

FRIEDGOOD H.B., KINDELL H.L., Endocrinology 27,262,1940 (230)

FUCHS H.G. and REICHSTEIN T., Helv.Chim. Acta 26,811,1943 (126)

FUNK O. and TILLI E., Sperimentale 104,34,1954. s/Exc. Éd. O, 270,1955 (117)

GALLAGHER T.F. and KOCH C., J.Pharmac.and Exp.Therap.60,97 , 1935.-(210)

GANS F.H., KELLER L.B. and MILLER I.I., J.Biol.Chem., 218,541, 1956 (40)

GARDNER I.I., HALTON R.L., ELLIS W. and MUCKLE E.C., Soc.Exp.Biol. 86,804,1954 (187)

GARDNER I.I., J.Clin.Endocrinol.1318,841,1953 (240)

GARRIDO A. y LUNZ A., Dtsch.Med.Wschr. 14,1951.Progresos de Terapéutica clínica 5,648,1952 (1,120,138,204)

GIRARD A., GAMULESCO G., Helv.Clin. Acta 19,133,1946 (209)

GIROUD A.',and GAUTA N.'Compt.rend.Soc.biol. 133,470,1940 (217)

GIROUD A.;MARTINET M.and BELIOT M.T.,Compt.rend.soc.biol. 134, 641,1940 (117)

GIROUD A.,GAUTA N.,and MARTINET M. compt.rend.soc.biol.134,32, 1940.(117) GIROUD A.,GAUTA N.,MARTINET M. and BELIOT M.T.,Bull.Soc. Chim.biol.,23,108,1941 (117)

GLASS E.M.and MILLER D.M.,J.clin.Endocrinol.1:10,911,1950 (219)

GOLDZIEHER M.A.,The Adrenal Glands in Health and Disease. F.A. Davis Co.Philadelphia 1940.- (80,89)

GORINI C.,Proc.Soc.Exptl.Biol.Med.,61,133,1946 (105,113)

GOTTSCHALK A.W. Arch.Méd. exp.15,215,1952 (186)

GREEP R.O.and DOANE B.K.Endocrinology 40,417,1945 (154)

GREEP R.O. and DOANE H.M.,Ann.N.Y.Acad. Sci. 50,600,1948 ,c/c. A. 44: 720,1950 (113)

GROAT R.A.,Amt.Record 80,33,1944 (103)

GRUNWALD P.and KONIKOV N.N.,Amt.Record 80,16,1944 (102)

GUTTMAN H.G.,J.clin.Endocrinol. 4,260,1944 (27)

GUTTMAN H.G., J.clin.Endocrinol.5,407,1945 (27)

HAMOLSH E.C.,Endocrinología de la mujer, Ed.Ao. 1950 pag.16 (72)

HANSEN C., Clin Foundation,Colloquia on Endocrinology,vol.III Churchill Ltd.,London 1950,pag.304 (175)

HANSSONS C.,HALCHEN E.and FRANCHIMONT J.,Acta Pharmacol 1,120, 1945.- (210)

HANSSON C.,Acta Endocrinol. 17,116,1954 (178)

HARTMAN F.A., BRONEL K.A., The Adrenal Gland ' London 1940, Pag. 17-21 (15,71,74,98,149,150)

HARRON P. Tratado de Bioquímica 1a.Ed. Edit.Atlante, México, 1940 pag.440 (33)

HEARD R.D.H. and HOFFMAN H.N. The Journal of Biolog.Chem. 138, 681,1941 (19)

HEARD R.D.H., GOREL M.and VERNIKO D.W., J.Biol.Chem. 165,000, 1946.- (37)

HENRY M.and THEVENET M., Ann.Endocrinol. 14,628,1953 (67,238)

HOGBEN H.I., Arch.Gynak ,181,650,1952: s/exc.Méd.7,146,1953 (186)

J NGRITO E.D.and WOLFE J.M. ,J.Biol.Chem. 138,667,1940 (222)

HOLTORFF A.F. y KOCH F.C., J.Biol.Chem. 135,377,1940 (230)

HOUSSAY B.L., LEWIS J.T., ORIAS O., ORIAS E., ARIZTIA V.C., LELOIR L.F., Fisiología Humana 2a.Edic.Ba.As. 1951, pág. 748 y 703.- (70,86,124)

HOUSSAY B.A., BIASOTTI A., MAZZOCCO F. et SARMIENTO M., comp.rend.Soc Biol. 114,737,1933 (152)

HOWELL W.H., FULTON J.F., Tratado de Fisiología 10a.Ed.Amer.Edit. bor S.A.Ba.Ar.-Montevideo 1951, toco II pág.1185 (38,169)

HUGGINS C. The Lancet I.6503, pág 1,1083 (242)

HUIS in't VELD I.C., L'Excretion des 17-cetostéroides au cours de la Grossesse et les Stéroids Urinaires. Au cours de la Gestation normale et pathologique , Masson y Cie. Paris 1954 pág.42 (188)

ICVIVE E.,GAZA WCZA E.P.,VILLA J.C., Técnicas Analíticas Fotocolorimétricas,Espectrofotométricas y Fluorométricas. Ed.Soto Bs.As. 1957,pag.61,64 (231)

INGLE D.J. en Progresos de Endocrinología clínica por G.SOCKIN Ed. Cient.Méd.Barcelona 1961 pag.164 (31,122,156)

JAILIN J.M.and MAMON MEILE F.L. Gynecologia 138,270,1954 (206)

JAYLE M.F.and CREPY O. Ann.Endocrinol. 14,71,1953 (172)

JAYLE M. .,MOIS in't VELD L.C.,DAULNEY E., and CREPY O. Acta Endocrinol. 21,115,1956 (176)

JAYLE M.F. et CREPY O.en les Steroids Urinaires en cours de la Gestation normale et pathologique Masson y Cie.Paris 1954 pag.1(192,206)

JANOSKI Z. et KOMAILOWSKI K. Acta Endocrinol. 6,157,1950 (195)

JENSEN C.C.and TOTTENHAM L.E. Acta Endocrinol.10,241,1952 (217)

JOHNSON S.C.,Acta Endocrinol.21,197,1956 (239)

KAFFAS A. and GALLAGHER T.F. J.Clin.Invest. 34.1566,1955 (179)

KAUFER P. Tratado de química orgánica Ed.Ed.Barcelona 1946, Pag.821 (6)

KELLEY V.C. American Practitioner 7,741,1956 (2,35,47,51,125,170,240)

KELLIE A.E.and SMITH A.F.,Acta Endocrinol.23,257,1956 (220)

KENDALL E.C.,Med.Clin.of North Amer. s/Día Méd.37:887,1952 (70)

KENDALL E.C.,Endocrinology 30,253,1942

KENDALL E.C.,Proc.Staff.Meetings Mayo.Clinic 21,256,1946 (125)

KENDALL E.C. ,Antibióticos y quimioterápicos 1.11,1961 (126)

KENDALL E.C.,Endocrinology on Metabolism in Medicine of year 1950,Harvard Medical School.Boston 1950,pag.41 (180,199)

KOMM P.I.,J.Clin.Endocrinol,9,705,1949 (83,179)

KOCHAKIAN Ch.D.Endocrinology 21,60,1937 (180)

KOREN S.in A.Symposium on Steroid Hormones loc.cit.pag.6 (18)

KORENCHEVSKY V.,DENNISON M.,Biochem J.29,1720,1935 c/o A.29: 7120,1935 (210)

LANGDON C.C.,TALBOT N.B. y FINCHAM A.,J.Biol.Chem.130,585,1939(237)

LANDON A. LINDEMAN C.,Helv.Chim.Acta 30,1373,1947 (134)

LARSON C.P.and GARDNER W.U. Anat.Record 72,37,1938 (116)

LAUBENTI I.Las Adrenales en la Vejez Embarazo-Tesis Doctorado en Bioquímica y Farmacia-Fac. de C.y Farmacia Univ.Nac.de La Plata 1948.-(71,81,82)

LEVIN L. en Progresos de Endocrinología clínica S.Rocklin Edit.Científica Barcelona 1951,pag.450.-(19)

LIEBERMAN S.,DOBRINER K.,Recent Progress in Hormone Research - Academic Press.Inc.Publishers N.Y.1948 (59,190)

LIEBERMAN S.,DOBRINER K.,HILL R.N.,FINCHER L.F.and RHOADS C.P. J. Biol.Chem. 172,203,1948.- (238)

LIEBERMAN S.,HARRISON L.N.,BUNGENBERG P.,RHOADS C.P.and DOBRINER K. J.Biol.Chem.186,703,1950 (204)

LIEBERMAN S.,DOBRINER K.,HILL R.,FINCHER L.F.,RHOADS P., J.Biol. Chem. 172,202,1948.- (238)

LUCCHESI E.M.,Rev.Farmac.de la Asoc.Farmac.y Bioq.Arg.,01,201, 1948.- (122)

LUCQ C.H.H.,Federation Proc. 6,401,1947: s/C.A. 41:2260,1947 (117)

MALKIEL R.C. and GLICK D., J.Biol.Chem. 211,677,1954 (111)

MARCHI A.,CARDINI C.,BAMFI R.,VILLALONGA F., Bioquímica Analítica Cuantitativa,Ed.El Ateneo Bs.As.1947,pag.1016 y 1060.-(5,225,227,228)

MARCHI A.D. y MARCOSKI E.C. Rev. de la Asoc.Bioquim.Arg.,73,169, 1950.- (231,260)

MARCHI A.D.,Rev.Farmacia de la Asoc.Farmac.y Bioquim.Arg. T.98 nº 2910,147,1950 (211,223,258,259)

MARCHI A.D. Fotometría Ed.El Ateneo 1941 p.60 (254)

MARKER R.E. , J.Am.Chem.Soc. 60,1705,1938 (161)

MARTIAL C.P. in Symposium on Steroid Hormones by F.C.Greene, 1950,pag.3,6 y 8.- (6,16,24,31,34,51,170)

MASON H.L.,Journal of Clin.Endocrinol.8,100,1948.- (7)

MASON H.L.,BROMTON V.E.,Physiological Review 30,321,1950 (7,216)

MASON H.L.,and KEPLER E.M. ,J.Biol.Chem.167,73,1947 (172)

MAN H.L.,Endocrinology 53,238,1953

MANTINELLI M., J.Clin. Endocrinol.Metab. 14,1146,1954 (145)

MENDIVIL J.M.,SALUM J.,Anales de la Asoc.Quím.Arg.,35,169,1947(145)

MICHER K.,MEIER J., Helvetica Chim.Acta 31,220,1948 (20)

MICHER K.,Helvética Chim.Acta 27,1727,1944 (19)

MILLAN R.E.,GUTIERREZ A.,Rev. de la Soc. de Pediat.La Plata,3.123 ,1950.- (206)

MILLER A.L.,ROSENBRANKS H.and DORFMAN R.I.,Endocrinology 63,928 1958.- (204)

Mc CAVACK T.H.,KENIGSBERG S.,SHEARMAN A.M. y DRUKKER I.J., J.Clin. Endocrinol.8,617,1948.- (230)

MORUZZI G.,ROSSI C.A.,MONTANARI L.and MANZINELLI H., J.Clin.Endocrinol.Metab. 14,1144,1954 (231,260)

MORROS SANDA J.,Semana Méd. 1,368,1953 (155)

MUNSON P.L.,JONES R.E.,Mc CALL P.J.,GALLAGHER T.F., J.Biol.Chem. 176,73,1948.- (212)

NAYLARS N.and GLICK D.,Endocrinology 56,67,1955 (111)

NELSON D.H.,SAMUELS L.T., J.Clin.Endocrinol.y Metab. 12,518,1952(132)

NITSCHAL Ch.R., J.Biol.Chem. 133,313,1940.- (221)

NISHIKAWA M.,OTO F.,IBAYASHI H.,ISHIBASHI C.,KOTSUJIGI K.and WATANABE R.,Endocrino.Jap. 2 271.1955 ,Rs/exc.Méd. 10,465,1956(238)

NOVIKOFFSKI J.K.,STUBBS R.D. and MEAT E.F.,Lancet 1,1270,1953(244)

NUSINOVICH B.,CARTER V.,Día Méd. 10 Mayo,750 ,1956 (49)

OGSTING R.B.,Proc.Soc.Exper.Biol.and Méd. 30,76,1933 (226)

OGSTING R.B.and GIBSTEN B. Endocrinology 22,307,1933 (229)

OLSON I.D.and COHEN S.L.Proc.Soc.Exp.Biol.86.728,1954 (218)

PACE E.,Gli Ormoni,Milano 1950,Pag.121 (165,169)

PASQUALINI R.C.,Endocrinologia Ed.El Ateneo Bs.As.1951,pag.624 (186)

PASQUALINI R.C., "Stress" Ed.El Ateneo Bs.As.1953,3,8, y 10 (78,149)

PASQUALINI R.C. Prén.méd.Arg. 42,3700,1953 (185)

PEARSON S.,DIACCOMO S.,J.Clin.Endocrinol.8,618,1948 (231)

PERCHI Pand ZAZU P., Poglin Endocrinol.8,231,1953 (67)

PERCHI ZACCARDI Pand FERRARA R.,Poglin Endocrinol.9,62,1956 (208)

PICCHI I.C.,DONADONI L.and RICHI A.,Boll.Soc.Med.Chir.29,383,1955 (151)

PICCHI I.C.Ann.Endocrinol.16,56,1955 (238)

Picchioni V.,Bol.Soc.Ital.Spor.28,260,1952 (27)

PINCUS G., J.Clin.Endocrinol.7,201,1947 (215)

PINCUS G.,Aspects du Metabolisme des Steroids Hormonaux,Masson y Cie.Paris 1955.pag.10 (70,164)

PINCUS G.,PINCHOFF I.P.,CAMIS J.,J.Clin.Endocrinol.8,231,1948 (178)

PINCUS G.,Endocrinology 32,476,1943 (211)

PLATT W.P.,Ned.Tijdchr.Geneesk,57,374,1953 Ab/exc.Méd.6,110,1954 (154)

POND W.H.,J.Clin.Endocrinol.and Metabolism. 10,1544,1953 (217)

POND W.H.,Lancet 6750,500,1951 (67)

POND W.H.,Acta Endocrinol,10,1,1952 (153)

PONTES C.C.,GILBUR E.K., J.Mol.chun.201,1950 (132)

PUNCEL J.F.,von HERSANI F.,JASCHKE S.,Castation et Cytologie Vaginale,Masson y Cie.Paris,1951 pag.106 (195)

PRUNTY F.T., The British Méd.Journ. 27 Marzo,751,1954

QUIROGA M.I.,MARIANI A.,CORTI R.E.,Medicina 5,347,1950 (201,263)

RAICES A.E.,Medic.Fomen. 6,585,1966 (207)

RAICES A.E.,Semana Méd. 1?,438,1960 (203,223)

RAICES A.E.,Semana Méd. 2,812,1960 (227)

RAMBERT P.,La Semana des Hopitaux 34,6 de Mayo,1960 (201)

RAVERA M.,BELLOTTI M.and NICCI V.E.,Arch.Paraguayo Patol.clin. 11,227,1966 (241)

REDDY N.J.,JENKINS D.y ZEOLN C.M.,Fetrolleum 1,511,1953 (132)

R FORZO MENDIVES J.,Día Méd.1,325,1962 (141)

REFORZO MENDIVES J.,ROCCA E.Z., y RIVIELLO A.A.,Día Méd.33,1071 1961 (203)

REICHSTEIN T.and v.EUW J.,Helv.chim. Acta 22,1197,1939 (33)

REICHSTEIN T.,Roche Rev. 4,138,1940 (33)

REICHSTEIN T.,Helv.chim.Acta 19,223,1936 y 21,1197,1938 (76)

REICHSTEIN T.,Helv.chim.Acta 20:878,1937 (161)

REITERO O.M.and DRENNA A.A. Anales de la Asoc.Quím.Argent.35,5,1947 (222)

RICCA A., Rev.Asoc.Bioq.Arg.109,11,1957 (220,224)

RIVOIRE M.R. La Presse Med. 62,1172,1954 (46)

RIVOIRE M.R.,RIVOIRE J. y PUJOL J.,La Presse Med.70,1431,1963 (129)

RIVOIRE M.R.,RIVOIRE J. y PUJOL J.,La Presse Med.70,1431,1963 (129)

RIVOIRE M.R.,JOMMARD C. y PASQUORELLI J., La Presse Med.42,764,1960 (148,201)

REILLY W.J.,NAJIB A.M.,LAIDLAW J.C.,ARNOLD A.S.,THORN G.W., J.Clin. Endocrinol.Metab.10,680,1950 (132)

ROCCA E.Z., Día Méd. 2,21,1953 (205)

ROBINS M.P. and WILLIAMS P.H. Arch.Path. 46,351,1948 (112)

ROMOSI E., J.Clin.Endocrinol.Metabolism 13:687,1953 (153)

RUIZ ALONSO L. en Fisiopatología y Clínica de las Glándulas Suprarrenales, Madrid 1951 p.52 (115)

ROMAN IV L.F., WOLF R.C., CONSTANDSE Hans PINCUS G., J.Clin.Endocrinol. 13:8,1953 (219,238)

ROSS R.A., HAMBLEN E.C., KENNETH CULBERT Wand BAPTIST W. Am.J.Obstet. Gynecol.42,607,1941 (199)

ROSENKRANZ F., KRIO J., Nature 160,315,1950 (6)

RUBIN B.L., ROSENKRANTZ H., DORFMAN R.I. and PINCUS G., J.Clin.Endocrinol.and Metabolism 13,668,1953 (238)

RUBIN B.L., DORFMAN R.I. and MILLER F., Endocrinology 51,463,1952 (67)

SALA C. y ALLER A. 2º Cong. Soc.Ital.Reumat.Milan 30 Nov 1956, s/Día Méd.39,2751,1956 (51)

SALMON I.I., and DORFMAN K., J.Biol.Chem.201,487,1953 (59)

SANCHIS I.I., Prog.Forsano Ros.4,65,1949 (168,170)

SANDBERG A.A., NELSON D.H., GLENN E., TYLER F.H.and SANCHIS I.I., Clin.Endocrinol. 13,1445,1953 (178)

SANFILIPPO G., Rend.Clin.Ostet.Ginec., 7,309,1952:s/Exc.Méd.7,413, 1953 (183)

SAYTON RUIZ A. en FISIOPATOLOGIA y Clinica de las Glándulas Adrenales.Madrid 1951,pag.13,17.- (13,133,204)

SAYTOS RUIZ A. en Diagnóstico Ed.Cient. Méd.Barcelona,1964.p.63 (144,149)

SAVARD K.,GURPIN C.,ROSENBAUM M.and DORFMAN R.I.,J.Biol.Chem. 203,717,1953 (175)

SAYERS G.and SAYERS M.A.,Endocrinology 40,265,1947 (151)

SAYERS G.,SAYERS M.A.,LIPTON M.A.and LIPTON C.M.H.,Proc.Soc.Exptl.Biol. Med. 55,259,1944 (152)

SCHAPOSNIK F.,GUTIERREZ A.,P.Méd.Arg. 30,1648,1953.(30)

SCHAPOSNIK F.,GUTIERREZ A.,P.Méd.Arg.30:1032,1951 (30,163)

SCHAPOSNIK F.,GUTIERREZ A.,P.Méd.Arg.5.300,1953 (203)

SCHER F.,Semana Méd. 10,830,1952 (222)

SCHENK A.and SCHENK E., Z.Klinderheilk 71,670,1909:a/C.A.47, 2320,1953 (182)

SELYE H.,Text book of Endocrinology 2ª Ed.Montreal Canadá 1949,pag. 82,216-220.- (11,202,172,180)

SELYE H.,Acta Inc.Med.Publishers,Montreal-Canadá,1950;a/F.Méd.Arg. 37,2218,1950 (78,150)

SILIQUINI P.E.,MICCA C.,Minerva Ginecol 3,157,1951 (196)

SIMPSON S.A.,TAIT J.F., y DUGH R. Lancet 2,268,1952 (46)

SIMPSON S.A.,TAIT J.F.,WILKINSON A.,TAIT H.,von EUW J.and REICHS-TEIN T., Experientia 9,333,1953 (124)

SIRCULIA M.,Acta Endocrinol.7,67,1951 (179)

STEICH M.and REICHSTEIN T.,Nature 141,209,1938.- (38)

ETICH C.R. and HARRINGTON I.D.K., Nature 172,308,1953 (219)

MUNDELE M.M.and PFIFFNER J.J.Science 71,321,1930 (76)

SANCHEZ I., KRAUSE R., Tratado de Histología y Anatomía Microscópica ,Ga.Nd.Da.Ao. 1955 p.103 (85,94)

TAKEUCHI S., Gunma Med.Sci. 3,171,1954 c/Exc.Méd. 9,232,1955 (118)

TALBOT N.B., BUTLER A.M., DIXON R.L. y MOORE J.R., J.Biol.chem. 160,235,1945 (129)

TARNOWSKY S., Montuori E., CHIERE H., Prén.Arg. 21,1778,1950 (203)

TELLEZ A.R., YAÑEZ R.A. and MARTI.Nelov.Med.Valparaiso 5,374,1956 (151)

TAPLEMAN J. HUGH. F.Leand LONG C.N.H., Endocrinology 32,373,1943 (82)

TIERI L.M. y PORTELA P.M. en Progresos de Endocrinología clínica por P.Soskin Barcelona 1951 p.227. (76,148)

TIGAN C.M., PORTELA P.M., PAGANI F.T. y MILIC A.C., J.Anér.Méd.Leo. 137,1042,1948 (147)

TIGAN C.V., CABANI PAGANI F.T. and PORTELA P.M., Science 105,256,1947 (152)

TIGAN C.V., PORTELA F.V. in WILLIAM'S ,Text.book of Endocrinology, Ed.Saunders 1950,p28 (216)

TRELLE D., Acta Endocrinol.19,383,1955 y 19,372,1955.- (27)

USANDIZAGA E.en Histopatología y Clínica de las Glándulas Adrenales,Vedrá Hnos,p.315.- (96)

VALDEZ SALVATIERRA,Bol.del Inst.de Fut.Méd. 8,191,1953 (205)

VENNING E.H.,on laboratory aids in Endocrine diagnosis by R.F.Bacmilla,Illinois 1954,p.78.- (26)

VENNING E.H., KARR W.G., y BROWN J.C., Endocrinology 38,73,1946 (128,129)

VENNING E.H., KARR W.G., Endocrinology 30,131,1946 (179)

VERGAR P., Vitamina en Hormona, 1, 85, 1941 (124)

VERTHONGAEN F., Acta Endocrinol. 10, 241, 1952. (132)

VERTHONGAEN F., Acta Endocrinol. 8, 103, 1951 (216)

VIVES H.W.C., y BROSTER L.R., The Adrenal Cortex H.K.Lewis Co. London 1933.- (96)

WALLACE E.C., CURRIE A.R. and JAILER J.W., J.Clin.Endocrinol.Metab. 15, 1073, 1955.- (132)

WARNER C.G., J.Clin.Endocrinol. 1, 561, 1941 (179)

WHITE W.M. and PERSON H.L., J.Amer.Chem.Soc., 75, 502, 1953 (145)

WILDING P.Penn CARLSON L.D., J.Clin.Endocrinol.and Metabolism- 16, 647, 1956. (177)

WOLFF J.E., FISHER L.P. y PATTERSON H.S., J.Amer.Chem. Co.63, 552, 1941.- (139)

WOLTMAN V., Folia Morph. 7, 65, 1953: c/Exc.Méd. 10, 320, 1956 (109)

WOTIZ H.H., LEVIN H.M., MANCUS P. and GAZIEP Y., Clin.Endocrinol.and Metabol. 17, 534, 1957 (176)

ZIMMERMANN U., Z.Physiol.Chem. 248, 47, 1938 (54, 211, 229)

ZIZINE L., Presse Méd. 63, 815, 1955 (163)

ZUCARO J., La Méd. 16, 375, 1951 (134)

ZUCARO J., ARIA A., ZOTTOLO H., Rev. Méd. de Chile 6, 377, 1950 (215, 217, 223)

ZUCKERMAN S., Lancet 2, 736, 1954 y 2, 785, 1954.- (155)

LOS NÚMEROS ENTRE PARÉNTESIS CORRESPONDEN A LA PAGINA DONDE FIGURAN CITADOS LOS AUTORES EN ESTA TESIS.

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA
BIBLIOT