



## LA DIABETES METAHIPOFISARIA

POR

B. A. HOUSSAY y V. G. FOGLIA

(Instituto de Biología y Medicina Experimental. Costa Rica 4185, Bs. Aires)

La acción diabética de la anterohipófisis fué descubierta por Houssay y Biasotti (1930) al demostrar que se produce una hiperglucemia diabética al implantar o inyectar la anterohipófisis a los animales pancreatoprivos cuya diabetes estaba atenuada por un hipofisectomía previa.

La inyección repetida de anterohipófisis a los perros normoglucémicos, les produce un estado diabético (diabetes hipofisaria) y al suspender el tratamiento la glucemia vuelve a su nivel normal. Pero cuando el tratamiento ha sido prolongado suficientemente, se establecen lesiones irreversibles de los islotes de Langerhans y el animal queda con una diabetes permanente. Esta diabetes debe llamarse *metahipofisaria*, abreviación del nombre más completo de diabetes insular metahipofisaria. Es una diabetes por insuficiencia de los islotes de Langerhans, con supresión de la función endócrina del páncreas y conservación de su función exocrina. El papel del extracto de anterohipófisis consiste en lesionar definitivamente a los islotes y así producir la diabetes, pero en adelante ya no es necesario el extracto de hipófisis para mantener el estado diabético. La diabetes permanente metahipofisaria ha sido obtenida en perros: a) con el páncreas reducido quirúrgicamente (Houssay, Biasotti y Rietti, 1932); b) con páncreas íntegro (Young, 1937). Los estudios de Young han sido tan importantes sobre el punto que podría llamarse a la diabetes metahipofisaria "diabetes

de Young", como propusimos en 1942. Esta diabetes ha sido muy estudiada por Best Dohan, Hedon, Loubatieres, Lukens y otros.

#### PLAN Y TECNICA

*Plan.* — Se estudió las diabetes metahipofisaria en perros con el páncreas íntegro y especialmente en perros con el páncreas reducido quirúrgicamente a la mitad.

*Técnicas.* — Los animales se mantuvieron en jaulas de metabolismo. Diariamente se determinaba: a) el volumen de la orina; b) la glucosuria (Benedict); c) la glucemia (Hagedorn y Jensen) en sangre recogida en ayunas, a la mañana, por una pequeña incisión del borde de la oreja. En las orinas reunidas durante 3 días se valoraba: a) el nitrógeno total (Kjeldahl), y b) los cuerpos cetónicos (Van Slyke). La alimentación fué de 3 tipos: a) *cárnea*, 40 a 60 g. de carne bovina cruda por Kg. de peso corporal; ésta fué la dieta habitual; b) *hidrocarbonada*, compuesta de carne 20 g., sacarosa 7 g., pan rallado 20 g. por kilogramo y día, no pudiendo reducirse la cantidad de carne porque la dieta era rehusada; c) *grasa*, crema (50 % grasa) 25 g., leche 20 cc., carne 30 g., azúcar 2 g. por Kg. de peso y por día. Se emplearon perros de 6 a 10 Kg., mansos, en general machos, cicatrizados de las operaciones y en buen estado general y de salud.

La preparación del extracto se hace de la manera siguiente: Las hipófisis se reciben sobre nieve carbónica al ser separadas del animal recién muerto. Se disecan las hipófisis a baja temperatura separando los lóbulos anteriores, que se pesan en conjunto. Se trituran en una máquina de picar carne que las convierte en una papilla y por cada gramo de glándula se les agrega 3 cc. de agua fría; se agita y se añade una solución enfriada de Na OH al 8 ‰ en la proporción de un cuarto del agua. Ej.: para 800 gramos de lóbulo anterior, 2400 cc. de agua y 600 cc. de Na OH al 8 ‰. Se agita bien repetidas veces el frasco puesto en agua y hielo y se deja en la heladera hasta el día siguiente. Se acidifica con ácido acético al 25 ‰ (para nuestro ejemplo unos 150 cc.); se agita, se espera algunos instantes enfriando siempre y luego se alcaliniza débilmente al rojo fenol con Na OH al 8 ‰. Se centrifuga y el líquido claro sobrenadante se distribuye en tubos de unos 60 cc. que se conservan congelados.

El extracto se inyectó por vía intraperitoneal, en cantidad diaria equivalente a 0,8 - 1,4 g. de lóbulo fresco por Kg. de peso y día; en general se inyectó 1 g./Kg./día.

Los perros con diabetes metahipofisaria se mantuvieron mediante inyecciones de insulina, a la dosis de 5 a 20 unidades por día, en general 10 unidades, que atenuaban los síntomas y permitían mantener a los animales en buen estado durante mucho tiempo. La influencia de los regímenes se estudió dándolos durante 10 días, de los cuales, los 6 primeros con 10 unidades de insulina y los 4 restantes sin insulina, contándose para los promedios los datos de los 3 últimos días sin insulina.

El metabolismo basal fué determinado por el Dr. Pedro Maz-zocco, en perros bien adiestrados para quedar acostados e inmóviles sin anestesia ni ligadura. La cabeza estaba metida en un cono metálico bien hermético, sujetado con bandas de goma y unido a un tubo con válvulas inspiratoria y espiratoria. El aire inspirado provenía de un gasómetro de Tissot o una bolsa de Douglas y el aire espirado se recogía en un espirómetro de Tissot y luego se analizaba con una bureta de Haldane. La temperatura bajo la manta de lana oscilaba entre 25 y 32°C.

## RESULTADOS

Se realizaron experimentos con perros con el páncreas; a) entero; b) reducido quirúrgicamente a la mitad, es decir, 8 a 10 g., en general 10 g.; c) reducido quirúrgicamente a un quinto de su masa. Esta descripción se referirá solamente a los dos primeros grupos.

**Perros con páncreas entero.** — Aunque Young y numerosos investigadores han obtenido sin dificultad la diabetes permanente, sólo la hemos conseguido por excepción. Una gran cantidad de animales presentaron diabetes que desaparecieron al suspender la inyección. Al repetirla murieron en su mayor parte. Algunos murieron con peritonitis, pero otros murieron, al parecer, por una acción tóxica del extracto. Hemos realizado experimentos en que se aumentaba cada semana la dosis, pero si bien conseguíamos fácilmente el estado diabético mientras se inyectaba el extracto, luego éste desaparecía al cabo de una o dos semanas de cesar el tratamiento; en muchos otros casos los animales murieron con

polipnea y astenia y con glucemias altas, 2,8 a 3,6 ‰, y fuerte cetonuria antes de interrumpir las inyecciones.

Sólo hemos obtenido cinco casos de diabetes metahipofisaria. Dos de ellos en perros que recibieron solamente anterohipófisis, en uno se produjo a los 28 días y en el otro a los 42 días de tratarlos; los animales se sacrificaron para injertar sus páncreas, al cabo de 23 y 27 días de estar con diabetes permanente metahipofisaria. Los otros tres animales fueron tratados con anterohipófisis y tiroides, uno de ellos es el DF 20 (fig. 5) del trabajo de De Finis y Houssay (1943); los otros dos fueron tratados alternativamente 4 días con 1 g. por Kg. y día de anterohipófisis fresca bovina y los 10 días siguientes con 0,5 g. de polvo de tiroides por Kg. y día, administrado por vía gástrica. Con este tratamiento alternado quedaron en estado diabético permanente al cabo de 21 y 37 días. La dosis de tiroides empleada por sí sola no produce la diabetes.

Los cinco páncreas de perros con diabetes permanente no segregaron insulina, cuando se injertaron en el cuello de cinco perros diabéticos por pancreatometomía total realizada 24 horas antes.

**Perros con páncreas reducido.** — Los perros con páncreas reducido a un quinto de su masa llegan fácilmente a la diabetes metahipofisaria, como hemos visto en varias decenas de casos. Pero nuestro estudio actual se refiere a 39 perros con páncreas reducido a la mitad de su masa, es decir, a unos 10 g., los cuales han sido observados en los seis últimos años, y que presentaban una diabetes permanente metahipofisaria.

*Función pancreática con páncreas reducido.* — En los perros con el páncreas reducido quirúrgicamente a la mitad de su masa, se observó que la glucemia basal y la postprandial era igual a la de los testigos; el promedio en ayunas fué de 0,91 g. ‰. La inyección endovenosa de 1 g. de glucosa por Kg. produjo una hiperglucemia cuya caída se observó en plazos normales, pero con ligera tendencia a retrasarse. En efecto, la caída por debajo de 1,20 g. ‰ se produjo en:

<i>Horas</i>	1	1 ½	2	3
Nº de normales	9	1	1	—
Nº con 10 g. de páncreas ..	2	3	1	—

La dosis diaria de lóbulo anterior que administrada una vez por día durante 4 días produce un ascenso glucémico que supera 1,5 g. %<sub>0</sub>, fué menor que en los normales, como se ve en los resultados siguientes:

<i>Dosis diabetógena, mg./kg./día</i>	80	150	500	1000	1500
% de perros normales . . . . .	0	0	3	20	54
Nº con 10 g. de páncreas ..	1	1	5	1	2*

(\*) Uno resistió a 2500 mg. sin tener hiperglucemia.

La secreción de insulina de estos páncreas fué normal en algunos casos y subnormal en otros (8 sobre 13), como vieron Houssay, Foglia y Smyth (1941) y se observa en la tabla 5. Según Haist y Best (1940) la pancreatectomía parcial no disminuye el contenido de insulina del páncreas del perro.

**Estudio de la diabetes metahipofisaria. Supervivencia.** — La evolución se asemeja a la diabetes de Sandmeyer en que hay una intensificación gradual de los síntomas. Si se administra insulina, 10 a 20 unidades divididas en 2 inyecciones en el día, la supervivencia es larga, con buen estado general. Así citaremos la duración de algunos casos: 51, 61, 90, 116, 122, 125 días. A la mañana, en ayunas, había siempre hiperglucemia y la orina de 24 horas contenía glucosa.

*Glucemia.* — Promediando los 3 últimos días de períodos de 4 días sin insulina, se apreció que las glucemias eran más altas con un régimen hidrocarbonado que con un régimen cárneo o grasa (tabla 1). Se realizaron los ensayos en períodos ya avanzados de la diabetes.

*Glucosuria, azoturia y cetonuria.* — La eliminación de glucosa y de nitrógeno fué elevada en los perros de la tabla 2, estando a régimen cárneo sin insulina y con mucho apetito. La relación glucosa-nitrógeno estuvo entre 2,3 y 2,8. Todos estos datos revelan una diabetes intensa semejante a la diabetes pancreática. Los animales presentaron los síntomas habituales de la diabetes: poliuria en relación con la glucosuria, polidipsia, polifagia. El peso se mantuvo durante el tratamiento con insulina y en ciertas épocas aumentó; pero descendió rápidamente cuando se suspendió la insulina.

Los cuerpos cetónicos, medidos en periodos sin insulina, variaron con la evolución de la diabetes. Al principio oscilaron entre 10 y 35 mg./Kg./día, pero al final llegaron a cifras muy altas,

TABLA N° 1

*Términos medios de las glucemias mg. %, de 4 días sin insulina, de perros con diabetes metahipofisarias después de estar sometidos 10 días a cada régimen (6 días con 10 unidades diarias de insulina y 4 días sin insulina)*

<i>Perro N°</i>	57	65	75	77
Régimen cárneo .....	257	269	250	294
„ graso .....	—	242	—	—
„ hidrocarbonado .....	262	341	350	329

TABLA N° 2

*Promedios de eliminación diaria de glucosa y nitrógeno en gramos por Kg. de peso y por día, y relación glucosa nitrógeno, de perros, con diabetes metahipofisaria y a régimen cárneo, sin insulina. Los cuerpos cetónicos en mg./Kg./día al principio y final de la diabetes*

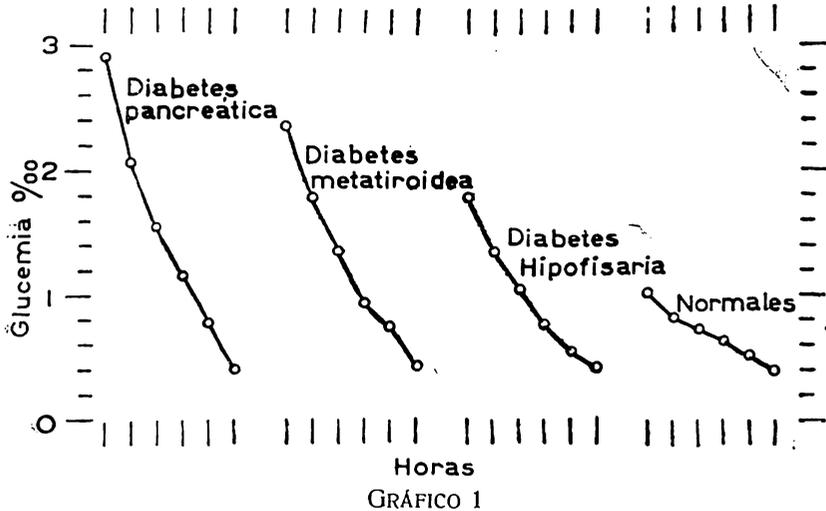
<i>Perro N°</i>	57	61	65	71	75	77
Glucosuria g./Kg./día .....	4.8	5.7	5.3	4.3	4	5.5
N en orina g./Kg./día .....	2	—	2.3	—	1.4	2
Glucosa/nitrógeno .....	2.4	—	2.3	—	2.8	2.7
Cuerp. cetóni. mg./Kg./día .....	11 a 370	—	10 a 486	19 a 233	—	33 a 370

130 a 470 mg./Kg./día, que coincidieron con un mal estado general de los animales: abatimiento, debilidad, a veces disnea.

*Metabolismo basal.* — En la tabla 3 figuran los datos del metabolismo basal, determinados por el Dr. P. Mazzocco. Durante la diabetes hubo un aumento bastante grande, que en general se acentuó con el tiempo. No se hicieron determinaciones en animales sin tiroides. El metabolismo no aumentó después de la

inyección de glucosa, pero subió después de una comida de carne; en ambos casos no subió el cociente respiratorio.

*Higado.* — En los animales que murieron con diabetes metahipofisaria se observó invariablemente un hígado graso típico, como en la diabetes pancreática. En dos perros con diabetes avanzada y grave se practicaron biopsias del hígado, que dieron cantidades bajas de glucógeno: 0,30 y 0,62 %.



El hígado es la fuente de glucosa de los animales con diabetes metahipofisaria, pues al extirparlo, en perros, se observó una caída inmediata y progresiva de la glucemia hasta niveles de hipoglucemia (gráfico 1).

*Secreción de insulina.* — El páncreas de los perros con diabetes metahipofisaria permanente no segregó insulina en cantidades apreciables. Esto se observó con 5 páncreas enteros y 10 páncreas reducidos a la mitad que fueron injertados en el cuello de perros diabéticos por haberseles extirpado el páncreas 24 horas antes (tabla 4). Mientras que el páncreas normal hace bajar la glucemia por debajo de 1,2 g. % en 3 a 5 horas, los páncreas de los diabéticos no modifican la glucemia (tabla 5).

En los casos en que se practicó el examen histológico del páncreas (Porto) había una atrofia considerable de los islotes, que eran difíciles de reconocer. Sólo contenían tejido conjuntivo;

TABLA N° 3

*Metabolismo basal, en calorías por metro cuadrado y día, de perros con páncreas reducido a la mitad, en estado normoglucémico y con diabetes metahipofisaria. En diversos periodos de evolución*

<i>Perro N°</i>	77	75	65	57
Normal .....	636	746	790	786
Diabético .....	938	984	928	—
	1024	1089	1054	—
	1159	1006	—	1089
	1466	1387	—	—

TABLA N° 4

*Injerto de duodeno-páncreas de perros normoglucémicos o con diabetes metahipofisaria, en el cuello de perros con diabetes por pancreatemia: 24 horas antes, cloralosados*

<i>Páncreas de</i>	<i>La glucemia descendió a 120 mg. % o menos en horas</i>				<i>La glucemia no bajó en 6 horas</i>
	3	4	5	6	
<i>Normoglucémicos</i>					
Entero y normal .....	5	5	5	1	1
Reducido a 10 g. ....	1	3	1	3	5 (*)
<i>Diabéticos</i>					
Reducido a 10 g. y con diabetes metahipofisaria .....	—	—	—	—	12
Entero y con diabetes metahipofisaria .....	—	—	—	—	5

(\*) Hubo descenso de la glucemia, pero sin llegar al nivel normal.

en pocos casos los islotes formaban una masa hialina. En algunos islotes existían pocas células  $\beta$ , vacuoladas y con núcleo en pic-

TABLA N° 5

*Duodeno-páncreas de 10 perros con páncreas reducido quirúrgicamente a la mitad y con diabetes metahipofisoria. Fueron injertados, por unión vascular, en perros con diabetes por extirpación del páncreas 24 horas antes Cloratosados*

Días sin inyecc.	RECEPTOR PANCREATOPRIVO									
	Kg. Peso	Glucemia a las horas								
		Antes	1 ½	1	1 ½	2	3	4	5	6
26	14	194	190	257	214	220	231	220	235	230
8	17	237	223	206	203	197	188	219	192	187
8	14	244	200	193	175	186	189	244	200	231
13	17	194	185	189	187	185	184	191	191	189
11	15	248	212	195	214	241	231	218	222	226
11	12	256	243	239	222	224	205	197	200	214
22	12	211	180	187	189	207	196	231	201	208
8	21 *	577	601	541	521	537	509	517	557	557
17	14	242	232	230	234	238	242	238	240	244
13	13	226	220	222	228	224	225	227	230	232
15	15	244	240	238	241	244	240	241	244	246
15	16	236	216	221	224	222	226	230	232	237

(\*) Pancreatoprivo desde 48 horas antes.

Las glucemias de los dadores fueron 313, 303, 165, 191, 290, 371, 312, 354, 380, 320 mg. % al sacarles el páncreas para injertarlo.

nosis; en algunos islotes había alguna célula  $\beta$  bien conservada y muchas células  $\alpha$  de aspecto normal.

*Tolerancia a la glucosa.* — Se inyectó 1 g. de glucosa por

Kg. de peso por vía endovenosa a 8 perros con diabetes meta-hipofisaria, a régimen cárneo, y que no recibieron insulina ese día. Las curvas obtenidas se caracterizaron por su nivel elevado, com-

TABLA N° 6

*Perros con páncreas reducido a la mitad, curvas hiperglucémicas después de la inyección de 1 g. de glucosa por Kg. de peso corporal por vía endovenosa*

*Con diabetes metahipofisaria*

GLUCEMIA MG. %						
<i>Antes de inyectar</i>	<i>5 minutos</i>	<i>30 minutos</i>	<i>1 hora</i>	<i>1 ½ hora</i>	<i>2 horas</i>	<i>3 horas</i>
237	456	337	341	329	294	272.
310	445	362	314	318	303	300
315	473	351	279	377	281	—
270	512	325	296	251	278	275
309	461	405	369	223	261	299
313	412	342	286	268	268	280
286	428	446	418	344	290	258
191	371	343	347	215	181	271
m. 279	446	364	319	278	269	279
± 44	±42	±41	±51	±69	±38	±15
NORMOGLUCEMICO (Término medio de 8 perros)						
94		220	138	101	93	83

paradas con las de 6 perros testigos con páncreas reducido a la mitad y normoglucémicos (tabla 6). Después de la inyección endovenosa de glucosa no se observó un aumento del cociente respiratorio (que era 0,64 a 0,68), según ha comprobado el doctor

Mazzocco en cuatro perros con diabetes. Dando glucosa e insulina endovenosas subió el CR a 0,78 y 0,82 en dos casos. El 80 a 90 % de la glucosa inyectada fué eliminado en la orina.

*Sensibilidad a la insulina.* — A cuatro perros con diabetes metahipofisaria y cuatro testigos con páncreas reducido a la mitad, y a régimen cárneo, se les inyectó por vía venosa una unidad de insulina por Kg. de peso corporal, y se les determinó la curva

TABLA N° 7

*Curvas glucémicas de perros con diabetes metahipofisaria inyectados por vía endovenosa con 1 unidad de insulina por Kg. de peso corporal*

Número del perro	GLUCEMIA MG. %					
	Antes de inyectar	30 minutos	60 minutos	90 minutos	120 minutos	180 minutos
71	308	227	137	114	111	95
65	223	159	129	161	191	209
77	352	334	314	327	336	343
75	306	109	73	75	77	87
	365	253	206	157	128	113
t. m. de 4 no diabéticos	99	64	52	60	74	83

glucémica. Los perros con diabetes metahipofisaria presentaron grandes diferencias de sensibilidad, como puede verse en la tabla 7. La diabetes de los animales con diabetes metahipofisaria tratados con insulina era modificada en la misma forma que la diabetes pancreática. Con los datos que tenemos no estamos en condiciones de poder decir si hay alguna diferencia de sensibilidad a la insulina.

La insulina disminuyó a la hiperglucemia y glucosuria existentes, pero nunca las suprimió con la cantidad inyectada. La dosis administrada se aumentó de 10 a 20 y 30 unidades por día,

dadas en dos inyecciones, cuando se observaba una agravación paulatina de los síntomas a pesar del tratamiento. El régimen alimenticio era cárneo.

#### DISCUSION

La diabetes que se observa durante el tratamiento anterohipofisario debe llamarse *diabetes hipofisaria*. La que persiste definitivamente después de interrumpir el tratamiento debe llamarse *metahipofisaria*. Este nombre significa que la produjo la anterohipófisis, pero que más tarde es una diabetes por insuficiencia de los islotes de Langerhans degenerados y atrofiados. Es una diabetes por supresión de la función endócrina pancreática con conservación del páncreas exocrino. Debe hacerse constar que la función exocrina no ha sido sometida aún a una investigación cuantitativa.

Los síntomas son los habituales de la diabetes pancreática, es decir: hiperglucemia, glucosuria, cetonuria, poliuria, polifagia, polidipsia, metabolismo basal alto, hígado graso. Dando glucosa endovenosa no sube el cociente respiratorio y la curva hiperglucémica es la típica de todas las diabetes (tabla 7).

Los páncreas de los perros con diabetes metahipofisaria no segregaron insulina en cantidad apreciable cuando se injertaron, por unión vascular, al cuello de perros con diabetes pancreática. Esto se comprobó con 5 páncreas enteros y 10 páncreas reducidos a la mitad.

La evolución recuerda a la de la diabetes de Sandmeyer, pues en ambas los síntomas se agravan progresivamente. Difiere de ella en que la agravación es más rápida. Mediante un tratamiento con insulina se puede mantener vivos a estos animales durante largo tiempo.

Nos ha sido muy difícil obtener la diabetes permanente en perros con el páncreas entero, que han conseguido otros experimentadores. Nuestros animales acababan por morir durante el tratamiento. No podemos explicar cuál es la causa de nuestras dificultades, y sólo nos quedan hipótesis para ulterior aclaración, como ser: a) una posible toxicidad mayor de nuestro extracto; b) posible acción desfavorable del régimen cárneo; c) otras causas. En muchos animales que estaban hiperglucémicos durante 10 a 30 días, al suspender las inyecciones de anterohipófisis, la glu-

cemia se normalizó en 5 a 10 días. Al repetir el tratamiento e insistir con él se producían las muertes.

En publicaciones nuestras anteriores se encontrarán más datos sobre las relaciones funcionales entre el páncreas y la hipófisis.

#### CONCLUSION

La diabetes metahipofisaria es una diabetes por insuficiencia del páncreas endócrino, lesionado definitiva e irreversiblemente por un tratamiento anterohipofisario. Esos páncreas no segregan insulina. La diabetes metahipofisaria se asemeja a las demás diabetes pancreáticas.

#### CONCLUSIONS

Metahypophyseal diabetes is a diabetes due to insufficiency of the endocrine pancreas. Definitive and irreversible lesions appear in this organ as a consequence of the injections of anterior lobe of hypophysis. These pancreas do not secrete insulin. Metahypophyseal diabetes is similar to the other pancreatic diabetes.

#### B I B L I O G R A F I A

- De Finis M. L., Houssay B. A.:* Rev. Soc. Argent. Biol., 1943, 19, 94. — *Dohan F. C., Chambers A. H., Fish C. A.:* Endocrinology, 1941, 28, 566. — *Dohan F. C., Lukens F. D. W.:* Amer. J. Physiol., 1939, 126, 478. — *Haist R. E., Best C. H.:* Science, 1940, 91, 410. — *Houssay B. A.:* Endocrinology, 1942, 30, 884. — *Houssay B. A.:* Essays in Biology. In Honor of H. M. Evans, Univ. California Press., 1943, p. 247. — *Houssay B. A., Biasotti A.:* Rev. Soc. Argent. Biol., 1930, 6, 8; C. R. Soc. Biol., Paris, 1930, 104, 407. — *Houssay B. A., Biasotti A., Rietti C. T.:* Bol. Acad. Nac. Medic., Buenos Aires, 1932, 171. — *Houssay B. A., Foglia V. G., Smyth, F. S.:* Rev. Soc. Argent. Biol., 1941, 17, 46; J. Exp. Med., 1941, 74, 283. — *Houssay B. A., Foglia V. G., Smyth F. S., Rietti C. T., Houssay A. B.:* Rev. Soc. Argent. Biol., 1941, 17, 301; J. Exp. Med., 1942, 75, 547. — *Long C. N. H.:* Harvey Lecture, 1937, 92, 194. — *Lukens F. D. W., Dohan F. C.:* Science, 1940, 92, 222. — *Young F. G.:* Lancet, 1937, II, 372; Endocrinology, 1940, 26, 345.
-