

## El metabolismo del ovario aislado.

(Conferencia dada en la Sociedad de Biología de Concepción)

Por ALEJANDRO LISCHÜTZ y SERGIO VESHNJAKOV

En el año pasado tuvimos la ocasión de mostrar a Uds. algunos animales en los cuales se produjo el fenómeno de la hiperfeminización en el aparato mamario por inertarse ovarios previamente aislados. Si el ovario aislado del organismo mismo, se conserva a la temperatura del hielo fundante o aun a la temperatura de pieza, sobrevive. En ciertos casos, ésta sobrevivencia es posible, aún si la conservación perdura hasta 16 días. El examen microscópico también nos ha revelado que un ovario que estaba durante varios días fuera del su nuevo lugar. Pero el examen microscópico nos enseñó al mismo tiempo que en el ovario conservado se producen cambios profundos organismo puede enraizarse de nuevo y sobrevivir muchos meses en por los cuales se explican varios fenómenos especiales que se constatan cuando se ingerta un ovario previamente conservado y no un ovario fresco.

Si el ovario aislado sobrevive, debe ser posible revelar su metabolismo, y se pregunta como la duración de la conservación y la temperatura del ambiente influye sobre él.

La Fisiología dispone de métodos que permiten medir el consumo de oxígeno en órganos muy pequeños o cantidades de tejidos que pesan no más de algunos miligramos. Debemos estos métodos a THUNBERG, WINTERSTEIN, BARCROFT y especialmente a WARBURG. Un consumo de oxígeno de pocos milímetros cúbicos de oxígeno por hora puede aun determinarse con gran exactitud. El aparato de BARCROFT (Fig. 1) al cual por razones técnicas hemos dado la preferencia, se basa sobre el principio manométrico: se determina la disminución de la presión que se ha producido en un sistema cerrado por usarse el oxígeno de este sistema en las oxidaciones del órgano o tejido.

Como el órgano produce anhídrido carbonico que se entrega al aire del sistema, es necesario eliminarlo: esto se consigue por potasia caustica que también se pone en el sistema cerrado. Si por ejemplo en el frasco derecho se encuentra el órgano que consume oxígeno y si el anhídrido carbónico producido se absorbe por el caustico, se establecerá una diferencia de presión y el líquido en la rama derecha del manómetro subirá. Para excluir las variaciones barométricas del ambiente, BARCROFT ha provisto su aparato de un frasco compensador; de esta manera por el aparato se deter-

mina no la diferencia de presión entre el frasco derecho y el ambiente sino entre los dos frascos que están en comunicación con las dos ramas del manómetro; se habla de un manómetro «diferencial».

Para hacer una medición, el aparato se pone en agua de una temperatura dada y cierto tiempo después las llaves de arriba se cierran. Es necesario que la temperatura de ambos frascos esté igual porque el mayor calentamiento de uno de los frascos producirá entonces, una diferencia de presión.

Por esta razón para uniformar la temperatura del agua se usa un mezclador eléctrico de movimiento continuo.

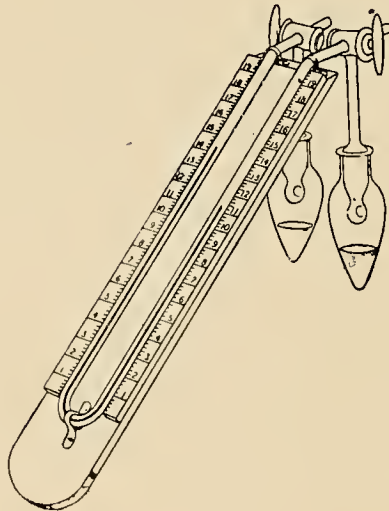


Fig. 1.—Aparato de BARCROFT para dosaje de gases en la sangre. Consiste de un manómetro con líquido liviano, y de dos frascos unidos con el manómetro. La prueba de sangre (o el tejido, si se sirve del aparato para determinar el consumo de oxígeno) se pone en un frasco; el otro sirve para excluir la influencia de los cambios barométricos y de la temperatura del ambiente. Para dosar el oxígeno en la sangre se agrega una sustancia que libera el oxígeno de la emoglobina; si se mide el consumo de oxígeno de tejidos, se agrega potasa cáustica para absorber el anhídrido carbónico producido por el tejido. Véase también las explicaciones en el texto.

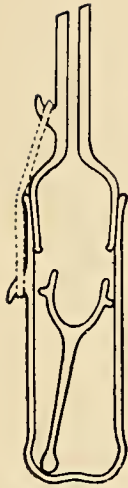


Fig. 2.—Frasco especial para experimentos de metabolismo con el ovario. El frasco externo se llena hasta la mitad con el cáustico. Se pone dentro el frasco interno en el cual se encuentra el ovario mismo. El frasco interno se esteriliza y el ovario sacado asepticamente del organismo, se encuentra protegido contra una invasión de microorganismos.

Lo que el aparato de Barcroft directamente revela, es una diferencia de presión en milímetros de la escala manométrica, pero lo que nosotros necesitamos saber en nuestro experimento, es el volúmen en milímetros cúbicos de oxígeno consumido. En otras palabras: hay que determinar previamente de cuantos milímetros cúbicos debe disminuirse el volúmen de gas en el frasco derecho para que se produzca una disminución de presión correspondiente a 1 milímetro del manómetro. Hay que graduar el aparato, o bien determinar la «*constante*» del mismo (milímetros cúbicos correspondientes a un milímetro de la escala manométrica). Esta graduación puede hacerse de varias maneras que no discutiremos aquí.

El aparato de BARCROFT fué construido por el autor para el fin especial de estudiar los gases de la sangre; dicho aparato le dió la posibilidad de hacer el análisis de gases con 1/10 de centímetro cúbico de sangre, mientras que con aparatos anteriores, como el de PFLÜCKER, se necesitaban 100 centímetros cúbicos. Estas cifras mejor que muchas palabras dan a Uds. una idea clara de los adelantos enormes que la investigación fisiológica ha hecho en los últimos tiempos.

Para realizar nuestros experimentos de metabolismo, aislamos al ovario con los métodos de asepsia correspondiente y lo ponemos en un frasquito aséptico especial (fig. 2) que de su lado se pone en el frasco de Barcroft. Después el aparato se pone en agua de cierta temperatura, y de hora en hora se lee la posición del líquido del manómetro. Teniendo en la mano la constante del aparato, podemos calcular el consumo de oxígeno por hora. Para poder comparar las cifras obtenidas en distintos experimentos se ha adoptado la proposición de WARBURG de hacer siempre el cálculo por miligramo de sustancia seca del tejido y por hora.

Voy a exponer actualmente los resultados obtenidos en nuestros experimentos.

En 11 experimentos hemos determinado el consumo de oxígeno a temperatura de pieza (17 a 21° C). Los ovarios pesaron de 17 a 58 mgr. lo que corresponde a 3,4 a 11,6 mgr. de sustancia seca. El promedio del consumo era de 0,37 mm. cub. por mgr. de sustancia seca en una hora, con una variación de 0,27 a 0,48 mm. cub.

El consumo disminuye de día en día; evidentemente el ovario aislado sufre trastornos profundos que se exteriorizan tanto más cuanto más dura el aislamiento. Un ejemplo demostrativo nos lo revela el experimento siguiente. Mientras que el primer día el consumo fué de 0,48 mm. cub. por mgr. en una hora, disminuyó al tercer día a 0,38, para acercarse el quinto día a 0,32. En los días que siguieron el consumo disminuyó hasta 0,15 en el noveno. Estas cifras son de gran interés para nosotros pues nuestros experimentos de transplatación nos habían revelado que si un ovario se conserva a temperatura de pieza más de 6 a 7 días, se enraiga sólo raramente. El experimento de metabolismo comprueba que se trata de trastornos profundos que se producen en el ovario durante su aislamiento.

En algunos experimentos hemos comparado el consumo de oxígeno por el mismo ovario a distintas temperaturas. El experimento siguiente se menciona como ejemplo. Durante dos días la temperatura se mantuvo a pocos décimos sobre 0; esto se consigue fácilmente llenando con pedazos de hielo el agua en el cual se encuentra el Barcroft.

El consumo de los dos ovarios del mismo animal fué de 0,15 a 0,17 mm cub. por hora y mgr. de sustancia seca. Al fin de 48 horas los aparatos con los ovarios se trasladaron en agua de 20°. El consumo durante los 3 días siguientes fué de 0,38 y 0,38, respectivamente.

Los resultados obtenidos revelan claramente que el órgano del mamífero continúa su metabolismo no solamente a temperatura de pieza, sino aún a temperaturas cerca de 0.

Si se compara el consumo a la temperatura de pocos décimos sobre 0 con el a 20°, se ve que en el primer caso el consumo es varias veces menor.

La influencia de la temperatura sobre procesos químicos y biológicos se calcula al variar la temperatura en 10°; el coeficiente  $Q_{10}$  indica la aceleración que el fenómeno respectivo sufre, si la temperatura sube 10°. Para determinar  $Q_{10}$  en nuestro caso es necesario conocer las cantidades de oxígeno consumidas ( $K_1$  y  $K_2$ ) a dos distintas temperaturas ( $t_1$  y  $t_2$ ); el cálculo se hace según la

fórmula conocida:

$$Q_{10} = \left( \frac{K_2}{K_1} \right)^{\frac{10}{t_2 - t_1}}$$

Calculando los datos de nuestros experimentos expuestos más arriba se reveló que  $Q_{10}$  varía entre 1,4 y 2,5. Por razones experimentales que no podemos discutir aquí, debemos concluir que la cifra mayor corresponde más a la realidad. En otras palabras: si disminuye la temperatura en 10 grados, disminuye el metabolismo 2,5 veces más o menos. De esta manera, el metabolismo a 0.2° debe ser más o menos 20 a 40 veces menor que la temperatura del cuerpo que es, en el cuy, de 38,5. Conservando el ovario a temperaturas bajas disminuye el metabolismo del órgano de una manera tan pronunciada que sobre hielo el consumo del oxígeno no sobrepasa a 5% del metabolismo regular a temperatura del cuerpo.

Los experimentos nos revelan así claramente que al conservar el organo en hielo, bajamos su metabolismo enormemente y le ponemos por decirlo así en un estado casi de reposo metabólico. Hablando en una forma ilustrativa, podemos decir que conservando el ovario en hielo, lo conservamos vivo, pero la llama de su vida se conserva pequeña — ¿y tal vez gracias a esto el órgano sobrevive un tiempo bastante largo, fuera del organismo? Cuando se analiza experimentalmente más en detalles esta cuestión, la situación se presenta mucho más complicada que lo que puede parecer a la primera vista. Discutiremos estas cuestiones que son de gran importancia para el problema de transplatación de ovarios previamente aislados, otra vez basándonos sobre nuevos estudios experimentales hechos en nuestro Instituto. Por el momento nos limitamos a decir que es muy probable que la depresión del metabolismo que tiene lugar a temperaturas cerca de 0, favorece la sobrevivencia del ovario aislado.

En nuestros experimentos de transplatación de ovarios previamente aislados, se nos presentó desde el principio, ya en el año 1925, el hecho que el ovario conservado a temperaturas más bajas que 0, nunca se enraiga. Hemos comprobado este hecho también en una serie de experimentos que hicimos aquí en Concepción. Ahora, nos preguntamos ¿cómo se comportará un ovario previamente refrigerado y descongelado después, en cuanto a su metabolismo?

Para estudiar esta cuestión hemos expuesto ovarios del cuy durante 30 minutos, a 11° bajo cero. Después se ha medido por

varios días el consumo de oxígeno a 17° (temperatura de pieza). El resultado fué uniforme en todos los experimentos: había un consumo en las primeras horas después de la descongelación, pero poco a poco el consumo disminuía, para llegar a las 36 horas a la mitad y aun a menos de 20% del metabolismo normal y para detenerse después definitivamente. Evidentemente la refrigeración del ovario y su descongelación rápida causa trastornos tan graves que el ovario muere.

Nuestro experimento de metabolismo con ovarios descongelados después de una previa refrigeración a 11°, nos da una explicación clara del hecho mencionado más arriba de que un ovario expuesto por varios minutos a temperaturas más bajas que cero, nunca se enraiga, mientras que un ovario conservado durante muchos días a pocos décimos de grado sobre cero, sobrevive y se enraiga. Transplantando un ovario expuesto previamente a temperaturas más bajas que cero, injertamos un órgano muerto o un ovario en el estado necrobiótico, un ovario en estado de morir; mientras que sirviéndonos de un ovario conservado en hielo, injertamos un órgano vivo, que ha permanecido durante varios días en un estado de metabolismo deprimido, pero que queda capaz de volver a su metabolismo regular y característico a la temperatura del cuerpo, si se vuelve a la última.

Uds. ven que ya los primeros pasos que hemos hecho en este campo nuevo de investigaciones experimentales nos han revelado conocimientos de gran interés científico dilucidando fenómenos que se presentaron cuando hicimos anteriormente nuestros experimentos de transplatación.

No podemos discutir con Uds. la importancia que tienen los resultados conseguidos en nuestros experimentos de metabolismo, para la Fisiología General, y tampoco podemos discutir la relación que existe entre nuestros experimentos y varios problemas importantísimos que se refieren a la conservación de órganos y tejidos, problemas tan palpitantes también desde un punto de vista práctico.

## Der Stoffwechsel des isolierten Eierstocks

Von

Alexander Lipschütz und Sergius Vehsnjakov

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Concepcion, Chile

Eine Vorläufige Mitteilung erschien in den C. R. Soc. Biol. (Paris) 99,535 (1928). Erscheint ausführlich in Pflügers Archiv.