

## Tesis de Posgrado

# La estimulación diastásica por los lipoides.

Laclau, Narciso C.

1912

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

**Cita tipo APA:**

Laclau, Narciso C.. (1912). La estimulación diastásica por los lipoides.. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.  
[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0110\\_Laclau.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0110_Laclau.pdf)

**Cita tipo Chicago:**

Laclau, Narciso C.. "La estimulación diastásica por los lipoides.". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1912.  
[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0110\\_Laclau.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0110_Laclau.pdf)

- UNIVERSIDAD NACIONAL DE BUENOS AIRES -

---

- FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FISICAS Y NATURALES -

---

- LA ESTIMULACION DIASTASICA POR LOS LIPOIDES -

-----

Tesis presentada para optar al grado de Doctor en Química) por el Ex-alumno  
MARCISO C. LACLAU

---



209 1/2 fo



**PADRINO DE TESIS**

**DOCTOR HORACIO DAKLANOVICH**

A MIS PADRES

A LOS MIOS.-

SEÑORES CONSEJEROS:

SEÑORES PROFESORES:

En este pequeño trabajo, he tratado la influencia de diversos lípidos en la catálisis del agua oxigenada, por la catalasa del hígado.-

La estimulación de las enzimas por los lípidos, punto de suma importancia para la biología, es un problema no dilucidado aún a pesar de las investigaciones realizadas al respecto.-

La Tesis que presento a vuestro ilustrado criterio ha sido ejecutada, en el laboratorio de Química Biológica y Físico-química del Instituto Modelo de Clínica Médica.-

Debo agradecer a su director el Doctor Luis Agote por la amplia hospitalidad encontrada en ese establecimiento.- Hago extensivo este agradecimiento al Doctor Ignacio L. Apphatis.-

Agradezco al Doctor Horacio Damianovich por el alto honor de acompañarme en este acto como padrino de Tesis.-

Doy las gracias igualmente al Profesor Señor Camilo Meyer y al Señor Luciano Hauman Merck por sus consejos y a los profesores de la Facultad por las enseñanzas que he recibido de ellos en las aulas.-

- PARTE GENERAL -

-----

"At no time since the period immediately following the discovery of the law of conservation of energy the out look for the progress of physiologie appeared brighter than at present, this largely being due to the application of physical chemistry to the problems of life"

J.Loeb

- MECANISMO DEL PROCESO DIASTASICO -

-----

La explicación de la naturaleza íntima de las diastasas, ha sido disputada por dos grandes teorías: la de la diastasa substancia y la de la diastasa propiedad.-

La primera de estas escuelas cuyo defensor más ardiente lo encontramos en Arthus, sostiene que las enzimas no obran debido a su constitución química.- Cree que el poder diastásico es una propiedad física susceptible de revelarse en ciertos cuerpos en la misma forma que el magnetismo o la electricidad.-

semejante idea sin más argumentos que lejanas analogías fué tachada por Duclaux de puro misticismo y mal recibida por los químicos cuyos esfuerzos se dirigieron principalmente al conocimiento de la composición química de los fermentos solubles.-

Sin embargo los partidarios de la segunda concepción no fueron más felices.- Con la firme convicción de que los fermentos solubles deben su actividad a una determinada estructura química, sometieron a las substancias dotadas de poder diastásico a purificaciones sucesivas.- Empero a medida que avanzaban en esta operación la propiedad diastásica se debilitaba hasta anularse.-

Además los análisis elementales arrojaron datos discordantes y si en el primer momento se supuso a las enzimas de na-

turalaza albuminoidea, investigadores posteriores creyeron encontrar en algunas enzimas un soporte hidrato de carbono.-

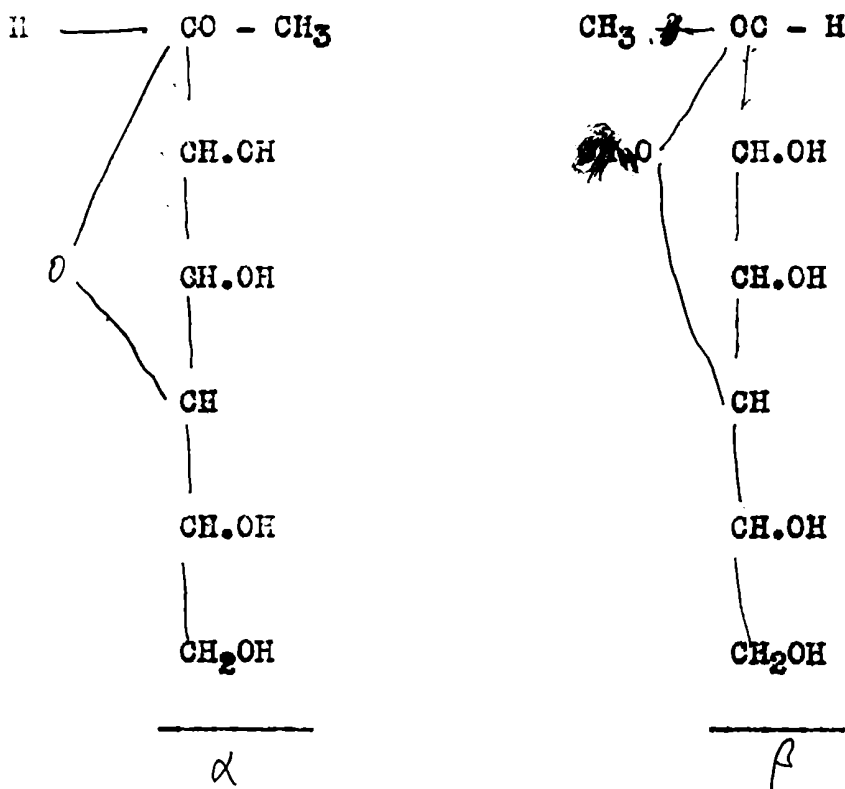
Así Hirschff identificó a la amilasa con la pentosana.-

Los célebres trabajos de Emilio Fisher robustecieron a pesar de todo la doctrina de la diastasa substancia.-

El químico alemán llegó a la conclusión de que las diastases son específicas y que solo pueden obrar sobre aquellas substancias que posean una estructura estereoquímica análoga a la suya.- Se adaptarían al cuerpo que transforman como una llave a su cerradura.-

Si hacemos actuar la maltasa sobre los metil glucosidos que son isómeros estereoquímicos

$\alpha$  y  $\beta$  y



hará fermentar al  $\alpha$  mientras que el  $\beta$  permanecerá inalterado.- Con la emulsina y la mirosina ocurre exactamente lo contrario.- Veremos más adelante que ésta teoría que fué recibida con agrado principalmente por biólogos puede armonizarse perfectamente con la doctrina, que busca en el estado coloidal la clave del problema de las enzimas.-



Al lado de estas dos tendencias típicas debemos señalar otros sistemas intermediarios que podríamos calificar de físico-químicos: la teoría de la labilidad de Loewy Pozzi-Escot y la coloidal que ha logrado captarse numerosos adeptos.-

Loew en sus estudios sobre la materia viviente creyó caracterizarla asignándole una energía potencial que no tiene la materia puramente orgánica.-

Observó que los proteosomas (nombre dado a la albúmina viva) presentaban algunas propiedades de los grupos aldehídicos y amínicos.- Por el contrario una vez inactivada las perdían por completo.-

Para Loew en la albúmina activa los grupos funcionales están en perpetua oscilación.-

Así por ejemplo en la función aldehídica el H se encuentra en un constante movimiento oscilatorio entre el C y el O, de acuerdo con el esquema reversible:



En este estado dinámico debemos buscar según Loew los caracteres de la materia viviente.-

Pozzi-Escot que difundió la idea de la labilidad en la albúmina viva, la transportó más tarde al terreno de los fermentos solubles.-

Según el autor francés las diastasas deben sus maravillosas propiedades a grupos funcionales lábiles.-

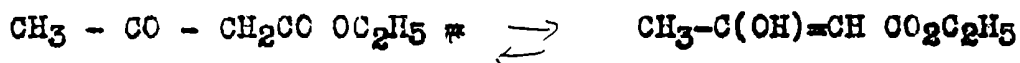
Los agentes capaces de destruir el poder diastásico obran por perturbación del régimen cinético de los grupos funcionales.- Sin embargo la teoría de Loew y Pozzi Escot apesar de sus atractivos presenta graves dificultades si se la examina bajo el punto de vista físico-químico.-

Las transformaciones funcionales tales como las conciben los autores citados más arriba, son conocidos en físico-química bajo el nombre de fenómenos de tautomería.-

Es este un hecho que cae dentro del terreno de la mecánica química ya que no es sino un caso particular de las reacciones reversibles representadas por la fórmula simbólica:



El caso más conocido es el del éter acetilacético descubierto por Geuther y que pasa constantemente de la forma cetónica a la enólica:



La intimidad del proceso de tautomería se nos escapa por el momento.- Sabemos únicamente que se produce en determinados disolventes y a temperaturas convenientes.- El  $\text{C}_6\text{H}_6$ ,  $\text{CS}_2$  y  $\text{HC Cl}_3$  son favorables a la aparición de tautómeros, mientras que no ocurren en el  $\text{C}_2\text{H}_5 \text{ OH}$   $\text{CH}_3 - \text{CO} - \text{CH}_3$  y  $\text{H}_2\text{O}$

En una palabra este estado sumamente delicado, tiene lugar cuando las moléculas poseen una amplitud de movimiento suficiente.-

Van't Hoff decía al respecto: "Los hechos más recientes, tienden a probar que un cuerpo tautómero corresponde a una mezcla en equilibrio de dos isómeros, pero es bueno agregar que no hay que esperar que esto suceda sino en los líquidos y en los sólidos en solución.- En el estado sólido es a una o a otra forma que corresponde el equilibrio y no es nada más que en la temperatura de transformación que los dos pueden existir en presencia uno de otro.-

En los líquidos o en los sólidos en disolución los equilibrios se desplazan poco a poco con la temperatura, y una mezcla en equilibrio puede existir en un gran intervalo de temperatura.- Así la solución de un par de isómeros sólidos se comporta

en general como un cuerpo tautómero en la vecindad de la temperatura de transformación.-

Debemos aquí señalar que la tautomería como todos los fenómenos resultantes del movimiento atómico debe desaparecer en el cero absoluto.-

Esto concuerda bien con el hecho que acabamos de indicar que el estado sólido excluye la tautomería; por otra parte, todos los compuestos tautoméricos se solidifican mucho antes del cero absoluto!-

Ahora bien las modernas investigaciones demuestran que las diastasas pertenecen al grupo de las sustancias coloidales.-

Desde hace tiempo se había observado que como los coloides las enzimas no dializan o lo hacen con dificultad.-

En los últimos años hechos más concluyentes demostraron que los fermentos solubles son coloides.-

Bierry, Shaeffer, V. Henri, Grüber y otro autores vieron que presentan el fenómeno de transporte eléctrico o catafóresis, como todos los coloides.-

La mayor parte de las diastasas se dirigen bajo la influencia de la corriente eléctrica al polo positivo.- Algunas como la amilasa y el jugo pancreático van al polo negativo.-

Por otra parte Behring, Michaelis, Gaidukow, etc., observaron en las soluciones diastásicas gránulos visibles al ultramicroscopio.-

Cabe entónces preguntarse si es correcto aplicar a los coloides, la noción de tautomería.- Los coloides son sólidos dispersos.- Las moléculas coloidales o micelas poseen una complejidad enorme.- Se comprende que este estado de extrema condensación sea poco favorable a los movimientos atómicos y por lo tanto a la tautomería.-

Ya hemos visto que físicos-químicos como Van't Hoff consideraban incompatible la tautomería con el estado sólido.-

Estas son las razones que nos hacen pensar que no es posible admitir la tautomería en las diastasas substancias coloides, en los cuales los átomos deben tener una amplitud mínima de movimiento.-

La explicación coloidal del fenómeno enzimático es quizás la que se ajusta más a los hechos.-

La teoría coloidal muy sugestiva nació como una consecuencia de los estudios realizados con los coloides inorgánicos, capaces de ejercer acciones catalíticas intensas.-

El platino coloidal tomando como ejemplo a este coloide eléctrico, descompone el agua oxigenada en una forma análogo a la catalqsa.-

Como las verdaderas diastasas, los fermentos inorgánicos para usar la denominación que les dió Bredig, tienen una temperatura óptima y mínima y los agentes capaces de paralizar a las enzimas les quitan la actividad y en dosis extremadamente pequeñas.- Tales semejanzas no pueden ser fortuitas.- A medida que avanzamos en el conocimiento del estado coloidal, más se afirma su importancia para el estudio de las diastasas.- Ya en el caso de los coloides inorgánicos surgió una pregunta que domina la catálisis entera - ¿En que forma trabajan los coloides inorgánicos? - Se cree generalmente que en virtud de combinaciones intermediarias de adsorción.-

Este mecanismo se trasladó luego a las enzimas verdaderas, pero se tropezó con una dificultad seria: la aparente discordancia entre la especificidad diastásica y los procesos de adsorción, considerados como no específicos.-

Es esta la misma objeción que provocó la teoría de la inmunidad de Bordet.-

Más es necesario reflexionar que la noción de adsorción no está en completa contradicción con la idea de especificidad.-

Hay por el contrario absorciones específicas.- La unión del anhídrido arsenioso con el  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  coloidal, por ejemplo.- La gelatina adsorbe más fucsina ácida que rojo congo; el papel de filtro retiene a estos colorantes en iguales proporciones.- La gelatina adsorbe más fácilmente las sales de calcio que las de sodio, etc..-

Vemos pues que se exagera la no especificidad de la adsorción.- Es muy probable que cuando se estudien con mayor atención estas combinaciones, la noción de la adsorción-específica, se imponga con mayor fuerza.-

Además la teoría coloidal no excluye en absoluto a la química.- Generalmente cuando se trata de coloides se olvida de que son entidades químicas, sin pensar que la constitución de un cuerpo coloidal puede influir en sus propiedades y entre ellas la de la adsorción.- Actualmente no sabemos nada acerca de la relación que puede existir entre las modalidades coloidales de las sustancias y su estructura química.-

Cuando una diastasa obra como un catalizador coloidal es probable que su armazón de grupos funcionales, repercute en las propiedades de la enzima.-

Pero conviene antes de desarrollar la teoría coloidal, hacer algunas consideraciones, sobre los activadores y los co-fermentos enzimicos.-

LOS ESTIMULANTES Y COFERMENTOS DIASTASICOS - El trabajo de las diastasas, es influenciado por los electrolitos y no electrolitos.- Muchos de ellos ejercen una acción positiva estimulando el trabajo diastásico;- otros por el contrario se comportan negativamente por inhibición parcial o completa de la diastasa.-

Así algunas diastasas son favorecidas por el ión  $\text{OH}$ , mientras que otras prefieren una completa neutralidad del medio o requieren la presencia del ión  $\text{H}$ .

La tripsina es el tipo de los fermentos favorecidos por la reacción alcalina del medio; la zimasa se halla en idénticas condiciones.-

Tanto las oxidases indirectas, como las directas y las peroxidases, como resulta de los trabajos de Jacobson y Senter, Bertrand y Rosenband, Bach y Slaraky, son paralizadas por los ácidos.-

La amilasa, maltasa, trehalasa, inulasa, celasa emulsina, las lipasas vegetales, la pepsina y los fermentos autolíticos son favorecidos por el ión H.

Algunas diastasas, son perturbadas tanto por los iones OH como por lo H. Sin embargo como observa Achalme es este un punto todavía no dilucidado.- La papaína ha dado lugar a las observaciones más contradictorias.- Würtz, Hirschler, Oswald y Sots, admiten que una ligera acidez le es sumamente útil.- Brunton y Wyatt, Martín, Davis, Riolas y Umney sostienen que una ligera alcalinidad es más favorable que una ligera acidez.- Por otra parte Rossbach y Chittenden dicen que la papaína es indiferente a pequeñas cantidades de ácido o de alcalí.-

Por último para Weeg y Hirsch el máximo de acción se obtiene en medio neutro.-

Cuando un ácido o una base paraliza una diastasa, esta acción puede ser reversible o no.- En el primer caso por neutralización del ácido o de la base se devuelve a la enzima su actividad primitiva.-

Pero puede ocurrir también que apesar de haberse eliminado la presencia del ácido o de la base, la diastasa no vuelve a su estado inicial.-

Victor Henri ha demostrado que esta reversibilidad es completa.-

Por neutralización de una solución de invertina con un ligero exceso de soda que molestaba al fermento, y luego de un con-

tacto de varias horas, se le puede reestablecer completamente volviendo a las condiciones de acidéz primitivas.-

La acción negativa del ión OH o del H, en algunas diastasas, puede explicarse en una forma físico-química, ya que una explicación puramente química (destrucción química del fermento), no estaría de acuerdo con la reversibilidad del fenómeno.-

Tanto el ión OH como el H tienen una carga eléctrica considerable, capaz de influenciar según su concentración la estabilidad de los gránulos de las diastasas.-

En las estimulaciones se realizarían una estabilización de las micelas del fermento, mientras que en los casos de inhibición ocurrirían coagulaciones de estos mismos gránulos.-

Además estos iones absorbidos por las diastasas podrían aumentar su poder catalítico.-

Los iones OH y H, son capaces de ejercer acciones catalíticas, pero estas son particularmente intensas cuando se realizan en un medio coloidal, creado por la diastasa.-

Los estudios que se han hecho sobre, la intervención de distintos metales en los fenómenos diastásicos, aclaran enormemente las nociones que acabamos de exponer, y muestran el importante papel que desempeñan los iones inorgánicos.-

Bertrand en su célebre trabajo sobre la oxidasa extraída del alfalfa, pudo demostrar que la actividad de esta enzima depende directamente de la cantidad de manganeso que contiene.-

Además comprobó que los compuestos de manganeso, son susceptibles de oxidar, lo mismo que la oxidasa, la resina de guayaeco, el pirogalol, la hidroquinona, el paraamidofenol, etc.-

Luego las diastasas oxidantes a base de manganeso, trabajarían gracias a este metal y la actividad catalítica se encuentra aumentada por el hecho de estar incorporado a la trama coloidal del fermento.-

Este estaría formado de acuerdo con la nomenclatura de Bertrand por un complemento activo (manganeso, en este caso particular) y por un complemento activante (porción coloidal).- Al complemento activo se le llama también, cofermento.- El metal se fija probablemente al complemento activante por adsorción.-

Ciertas oxidasas como la lacasa no obran sino en presencia de una cantidad suficiente de iones OH.-

Para Dony Hénault que ha estudiado con sumo cuidado la cuestión la intervención del ión OH es tan necesaria como el mismo manganeso.- La unión del ión OH y del manganeso tiene por objeto no sumar pero multiplicar sus propiedades oxidantes propias.-

Precipitando por alcohol una materia coloidal como la goma o la dextrina, en presencia de sales de manganeso Dony Hénault obtuvo una diastasa artificial con propiedades oxidantes análogas a la de la lacasa.-

Por otra parte Trillat, agregando trazas de cloruro manganeso, blanco de huevo, ligeramente alcalinizado había obtenido antes que Dony Hénault una oxidasa artificial.-

El manganeso favorece a las lipasas vegetales.-

Otros metales como el hierro actúan lo mismo que el manganeso.-

Sarthron puso en evidencia que en la schinoxidasa, extraída del achinus noble el complemento activante es el Fe.-

El cobre parece desempeñar un papel en las oxidaciones diastásicas, aunque hasta el momento no se ha podido precisar esta idea.-

El vanadio, las tierras raras y el mercurio favorecen las oxidaciones.-

El calcio es también un metal sin cuya intervención no ocurrirían muchas acciones enzimáticas.-

Si el manganeso parece entrar en la constitución de las oxidasas el calcio lo encontramos en los fenómenos de coagulación.-



La peptinasa, la trombasa, y el lab fermento no pueden actuar sinó en presencia de calcio.-

Los demás metales alcalino-térreos pueden reemplazar aunque con menor eficacia al calcio.-

Además el calcio puede favorecer algunos fermentos hidrolíticos.-

Otros autores han tratado de estudiar el complemento activante por métodos más indirectos,- de los cuales la diálisis simple o eléctrica ha dado excelentes resultados.-

El principio del método es el siguiente:

Cuando se dializa una diastasa, el complemento activante de naturaleza coloidal no puede difundir mientras que el complemento activo atraviesa con facilidad la membrana.-

Por diálisis del jugo pancreático através de una membrana de colodio se consiguió inactivarlo.-

Por adición de diferentes substancias a la parte inactiva Bierry y Giaja pudieron restituir a la enzima su poder fermentativo.-

Los ioduros tienen un poder activante pequeño, los bromuros son más eficaces y finalmente los cloruros alcalinos y alcalino-térreos, tienen una acción más marcada.-

Lisbonne y Vulquin por diálisis eléctrica pudieron inactivar la amilasa de la malta.-

Starkenstein inactivó por diálisis a la amilasa del hígado y le devolvió su poder por adición de cloruros.-

Frouin y Compton disociaron la tripsina pancreática por diálisis en agua destilada y la reactivaron agregándole sales alcalinas o alcalino-térreas.-

Magnus consiguió separar a la lipasa del hígado en dos principios inactivos aisladamente.-

Citaremos para terminar los trabajos de Harden y Joung

que le permitieron separar a la zimasa en dos porciones no activas.-

Muy interesante es el estudio de las quinazas.- Las investigaciones de Chipowalnikoff y luego de Delezenne mostraron que el jugo pancreático que se recoge puro en el canal de Wirsung es inactivo.- Pero la acción diastásica se hace sentir si se le agrega una pequeña cantidad de jugo intestinal.- Mesnil y Achalme señalaron la analogía que existe entre este fenómeno y el de la cooperación de la alexina y ciertos anticuerpos como las hemolisinas y bacteriolisinas.-

A la substancia que provoca la activación del jugo pancreático se le denomina quinasa y es considerada como algunos como un fermento de fermento.-

Las quinazas transformarían por fermentación a la tripsina inactiva o pro-tripsina en tripsina.-

protipsina + quinase = tripsina.-

Larguier des Bancela, consiguió substituir a la quinasa natural por una artificial.-

Sumergía cubos de albúmina en un baño de azul de metileno, de verde de metilo, de azul de quinoleína, etc., (coloides positivos).-

Después de un cierto tiempo se quita el cubo de albúmina de la solución colorante y se le agrega una pequeña cantidad de ciertos electrolitos como  $(NO_3)_2Ca$ ,  $(NO_3)_2Ba$  o  $(NO_3)_2Mg$ .

El jugo pancreático puro difiere perfectamente al cabo de doce horas la albúmina.-

Es necesario hacer notar que la dosis de colorante adsorbido es muy pequeña.-

En las condiciones anteriores un gramo de albúmina fija un centésimo de milígramo de azul de toluidina.-

De todo lo expuesto se deduce que existe una transición entre la activación de un profermento por su correspondiente quinasa y la estimulación por los electrolitos o no electrolitos.-

---

- LA MECANICA QUIMICA DE LAS ACCIONES DIASTASICAS -

Bajo el punto de vista de la mecánica química las diastasas son catalizadores, coloidales específicos, según la definición clásica de Mlle. Filloche.-

Los catalizadores poseen los siguientes caracteres:

1º - Obran en cantidades muy pequeñas.- 2º - <sup>P</sup>roducen una aceleración de la velocidad de reacción sin intervenir directamente.- 3º - <sup>P</sup>ueden actuar sobre una cantidad ilimitada de materias sin perder sensiblemente su poder.-

El estudio de los fenómenos catalíticos es necesario realizarlo con los métodos de la mecánica química, y es por esto que expondremos brevemente algunas nociones de esta rama de la físico química antes de abordar el problema especial de la catálisis enzimática.-

En cinética química se llama velocidad de reacción al cociente de la cantidad de substancia transformada en un tiempo determinado.- Si designamos por  $x$  a la cantidad transformada y por  $t$  al tiempo, la velocidad de reacción es expresada por la fórmula:

$$\frac{x}{t} = \text{velocidad de reacción.}$$

En un intervalo muy corto será:

$$\frac{dx}{dt} = v$$

La unidad de velocidad es la unidad de substancia transformada en la unidad de tiempo, del sistema c. g. s.

En 1803 Berthollet entrevió la ley de las masas, formulada de una manera matemática por Guldberg y Waage y que tiene una importancia capital para la mecánica química.-

La ley de las masas se puede enunciar diciendo que la velocidad de reacción en un sistema homogéneo es proporcional al producto de las concentraciones de los cuerpos que reaccionan.-

Si tenemos un sistema formado por dos cuerpos A y B que originan un tercero C y si llamamos a  $a$  y  $b$  las concentraciones de A y B respectivamente, tendremos:

$$v = k.a.b$$

$k$  es una constante de afinidad que depende de las condiciones físicas del sistema.-

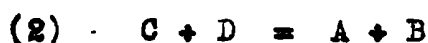
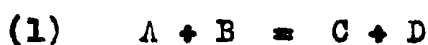
En los sistemas químicos en evolución se presentan varios casos.- Algunas veces los productos que se forman son eliminados del sistema bajo la forma de gases o por precipitación.- En otras ocasiones se acumulan y dan lugar a una reacción inversa que conduce a un estado de equilibrio químico.-

Supongamos tener un sistema de dos cuerpos A y B que dan nacimiento a otros dos C y D que a su vez se combinan para reproducir las substancias primitivas.-

Esto se expresa por la ecuación:



En realidad en este proceso reversible hay que distinguir dos reacciones inversas:



Siendo  $a$  y  $b$  las concentraciones de A y B y  $c$  y  $d$  las de

C y D valiéndonos de la ley de las masas podemos escribir:

$$a.b.k = v$$

$$c.d.k' = v'$$

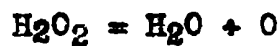
donde  $v$  y  $v'$  son las velocidades de los sistemas (1) y (2).-

Como estas dos reacciones tienen un sentido inverso, cuando  $v$  es igual a  $v'$  se llega a un estado de reposo aparente o sea a un equilibrio químico de naturaleza dinámica.-

Si en un sistema químico varía únicamente la concentración de un cuerpo, la reacción es monomolecular, bimolecular cuando son dos, etc..-

Para el estudio de las fermentaciones nos interesan únicamente las reacciones monomoleculares.-

En la descomposición del agua oxigenada por el  $MnO_2$  o por un metal coloidal, encontramos una reacción monomolecular, pues varía la concentración de una sola sustancia:



El <sup>o</sup> al escaparse impide que el proceso sea reversible.-

Representemos con  $x$  la cantidad de sustancia transformada en un sistema monomolecular A, cuya concentración en un comienzo es  $a$ .-

En un intervalo de tiempo infinitamente pequeño tendremos, aplicando la ley de Guldberg y Waage.-

$$\frac{dx}{dt} = K (a - x)$$

Al integrar esta ecuación diferencial para volver a términos finitos, la convertiremos en la siguiente:

$$K = \frac{1}{t} \log. \frac{a}{a - x}$$

Para saber si una reacción sigue la ley de las masas existen varios métodos.- Uno de ellos consiste en medir a diversos intervalos de tiempo, la concentración de  $x$ .-

Se obtienen de este modo diversos valores:  $x, x', x'', x''', \dots$  que substituidos en la forma logarítmica, nos deben dar la constante  $K$ .-

Naturalmente que como estas leyes se cumplen en sistemas isotérmicos, debemos operar a una temperatura invariable durante el curso de la reacción.-

Otro método menos exacto y que debe ser empleado de preferencia como control, consiste en medir la cantidad de materia transformada en el mismo tiempo, en dos sistemas de concentración diversa.-

De acuerdo con la ley de las masas, en un lapso de tiempo igual las cantidades de sustancias transformadas son proporcionales a la velocidad de esta reacción.-

Si examinamos dos concentraciones, una de las cuales es múltiple de la otra, se obtiene:

$$\frac{x'}{x} = \frac{v'}{v} = \frac{Kna}{K'a} = n$$

La relación entre las cantidades de materia transformada debe ser igual a la relación de las dos concentraciones si la ley de las masas se cumple.-

No realizándose esta igualdad se puede concluir o que la ley de las masas no se aplica o bien que el coeficiente de afinidad  $K$  no es el mismo en las dos experiencias.-

Otro método consiste en buscar el tiempo necesario para que en dos sistemas se transformen la misma proporción de sustancia.- Entonces la parte logarítmica de la fórmula:  $K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$  desaparece pues y es evidente que la relación:

$$\frac{a}{a-x} = \frac{a n}{n a - n x} \quad \text{Queda:} \quad \frac{K}{K'} = \frac{t}{t'}$$

Si  $K = K'$ , es decir si el sistema se ajusta a la ley de las masas  $t = t'$

La catálisis diastásica se amolda a las leyes que dominan

las reacciones ordinarias de la química inorgánica u orgánica?-

Esta pregunta tiene una importancia filosófica y práctica, pues en su contestación los partidarios de la asimilación de las diastasas a los catalizadores inorgánicos, creían encontrar un argumento decisivo.-

Los numerosos estudios realizados en este sentido probaron que si se exceptúan a la catalasa, la inulasa y la tripsina, las demás diastasas se apartan más o menos de la ley de las masas.-

O'Sullivan y Thompson, Victor Henri y Adrián Brown se ocuparon de la cinética de la invertina.- Esta enzima sigue una ley más rápida que la logarítmica.-

Victor Henri trató de dar una fórmula empírica.- Agregando  $x$  al numerador de la relación  $\frac{a}{a-x}$  de la fórmula logarítmica se obtenía para  $K$  una constante satisfactoria.- La fórmula de V. Henri es pues:

$$K = \frac{1}{t} \log. \frac{a+x}{a-x}$$

Bodenstein llegó a una fórmula que se adapta con exactitud entre grandes diferencias de concentración.- Se apoya en que la sacarosa disminuye la acción de la invertina y esta perturbación no sería mayor que la del azúcar invertido n.- Este autor supone que  $m$  y  $n$  son proporcionales a las concentraciones respectivas de  $C_{12}H_{22}O_{11}$  y de  $C_6H_{12}O_6$

La fórmula es la siguiente:

$$K = \frac{a}{t} (m - n) \frac{x}{a} + \log. \frac{a}{a-x}$$

Sirviéndose de los experimentos de V. Henri, Bodenstein determinó los valores siguientes que se adaptan mejor a los hechos:

Sea  $m = 2$  y  $n = 1$ . La fórmula se transforma entonces:

$$K_2 = \frac{a}{t} \left( -\frac{x}{a} + \log. \frac{a}{a-x} \right)$$

La fórmula anterior se aplica con éxito a las concentraciones medias.-

V.Henri dió otra fórmula basada en la suposición de las combinaciones intermediarias entre la sacarosa y la sucrasa.-

$$K_3 = \frac{a}{t} (m - n) \frac{x}{a} + n \log. \frac{a}{a - x} + \frac{l}{t} \log. \frac{a}{a - x}$$

Los valores  $m = 30$  y  $n = 10$  que se obtienen por tanteos son los más satisfactorios y entónces la fórmula se convierte como sigue:

$$K_3 = \frac{10a}{t} \left( \frac{2x}{a} + \log. \frac{a}{a - x} \right) + \frac{l}{t} \log. \frac{a}{a - x}$$

Parecería que esta fórmula sólo es aplicable a la invertina.-

De las investigaciones hechas hasta el presente se deduce que: la inulasa, la catalasa y la tripsina siguen la ley logarítmica aproximadamente.- 2º - que la invertina, la maltasa, la lactasa, la zimasa y la lipasa, se conforman a una ley más rápida.-

Por último la emulsina y la amilasa son regidas en un comienzo por una ley más lenta.-

V.Henri cree que estas diferencias entre la ley de las primeras diastetas y la de las segundas, obedecen a combinaciones intermediarias entre la enzima y el substratum.-

En cambio Achalmé busca en la viscosidad la razón de ser del fenómeno.-

Reversibilidad del proceso diastásico.- Las investigaciones experimentales de Lemoine, Michaelis, Knoblauch y Turbaba demostraron, que en las reacciones reversibles los catalizadores no modifican el límite del equilibrio.-

Como consecuencia se deduce que deben actuar acelerando igualmente las dos reacciones inversas.-

Van't Hoff emitió la idea de que la reversibilidad debía



encontrarse igualmente en el campo de las enzimas.-

Esta noción tenía una importancia grande en biología, porque permitía la explicación de las síntesis que ocurren en los organismos, tanto vegetales como animales.-

Croft Hill fué el primero en observar un proceso de este género.- Mediante la maltasa consiguió la síntesis de la maltosa. (1)

Fischer y Armstrong, consiguieron la isolactosa, por condensación de glucosa y galactosa por la diastasa del Kefir.-

También Tammann señaló un equilibrio químico en el caso de la emulsina.-

Bourquelot y Bridel realizaron la síntesis de los glucósidos de diversos alcoholes por la influencia de la emulsina sobre una mezcla de glucosa y soluciones acuosas concentradas de estos alcoholes.-

Máx Cremer ha mostrado que en el jugo de levadura desprovisto de glicógeno, se puede agregando un azúcar fermentecible, hacer aparecer la reacción del glicógeno al cabo de 12 horas.-

Kastle y Loevenhart señalaron la reversibilidad de la lipasa de los tejidos.-

Los resultados obtenidos con las enzimas proteolíticas son muy inseguros.- Empero, Brailsford Robertson con la pepsina y Taylor con la tripsina, por condensación de los productos de retrogradación digestiva de la caseína llegaron a obtener la paracaseína.- Bayliss probó que por influencia de la tripsina, en una solución concentrada de productos tripticos se notaba una disminución de la conductibilidad eléctrica.- Esto parecería indicar una síntesis.-

Sin embargo todos estos resultados son acogidos con reservas por muchos autores, que creen no existen tales equilibrios y que las síntesis son obra de fermentos distintos, que se encuentran mezclados con los de retrogradación.-

---

- RESUMEN SOBRE EL MECANISMO DE PROCESO ENZIMATICO. -

-----

Las diastasas son catalizadores coloidales específicos.-  
La mayor parte de ellas han sido disociadas en dos porciones inactivas por separado.-

Muy verosilmente la primera etapa del trabajo diastásico tiene lugar por una combinación de adsorción entre la enzima y el substratum.-

Las diastasas energéticamente se comportan como un factor de acción.- Su papel se reduce a aumentar una velocidad de reacción mínima.-

En el momento presente no obstante los esfuerzos de Arrhenius, *van der Waals* etc no sabemos como se realiza la aceleración de la velocidad de reacción por un factor de acción.- En el caso de la temperatura (el más estudiado) se admite de una manera general, que este agente provoca la formación de moléculas activas, que son las únicas capaces de entrar en combinación.-

Esto suponiendo que un líquido, una solución o un gas esté formado por una mezcla de moléculas activas e inactivas en equilibrio.-

Podríamos pensar que las enzimas, se combinan por adsorción con las moléculas activas, que luego se transforman.- Roto el equilibrio aparecerían nuevas moléculas en el mismo estado y así sucesivamente.-

---

- LOS LIPOIDES BAJO EL PUNTO DE VISTA QUIMICO Y BIOLOGICO -

-----

Con el nombre de lipoides se designan a diversas combinaciones orgánicas, entre las cuales no existe siempre un parentesco químico.- La denominación creada por Overton responde a la comunidad de ciertas propiedades físicas.- Por otra parte se encuentran reunidos en determinados sitios de la célula.-

Se pueden dividir a los lipoides en los siguientes grupos: grasas, fosfatidos, cerebrósidos, colessterinas y sus productos de transformación.-

Hay que observar que no todos los autores están conformes en incluir a las grasas entre los lipoides.-

Los cuerpos grasos que mayor interés presentan son los ácidos grasos no saturados, lo mismo que sus éteres.-

Los fosfatidos poseen un papel muy importante en biología.-

Desgraciadamente sabemos muy poco en la actualidad acerca de su constitución química.-

Poseen una gran facilidad para formar combinaciones de adsorción estables.- Como en el caso anterior los fosfatidos con ácidos grasos no saturados son los más importantes.- Las propiedades de los fosfatidos guardan una estrecha relación con la constitución de sus ácidos grasos.- Así los fosfatidos saturados, lo mismo que las grasas saturadas son cuerpos sólidos, cristalizables mientras que los no saturados no cristalizan.-

Los principales fosfatidos no saturados son: la lecitina, y la cefalina (~~con radicales ácidos del aceite de lino y estearina~~).- X la ~~con tres radicales no saturados de la serie de ácidos del aceite de lino~~.-

Citaremos a la esfingomielina como el fosfatido más importante entre los saturados.- Generalmente se encuentra mezclado con un cerebrósido.-

Este complejo se llama protagón.-

Los cerebróidos, poseen ácidos grasos saturados.- De acuerdo con lo dicho anteriormente son sólidos.- Tienen una constitución mal conocida.- Suministran por hidrólisis, ácidos grasos, galactosas y partes que contienen nitrógeno.- La cerebrina es el cuerpo más conocido de este grupo.-

En cuanto a las colessterinas son alcoholes aromáticos secundarios, que forman éteres con los ácidos grasos.-

Se tienen conocimientos muy poco avanzados sobre su constitución.-

También las colessterinas forman combinaciones de adsorción con diversas sustancias (saponina, lecitina, etc.).-

Las toxinas y enzimas son igualmente adsorbidas por la colessterina.-

Apesar de que las colessterinas son bajo muchos puntos de vista, los lípidos de mayor estabilidad, la luz ejerce sobre ellos una acción evidente.- Se colorean en amarillo y adquieren un ligero olor.- Probablemente este fenómeno es producido por la oxidación de las colessterinas.-

Los lípidos desempeñan en biología, un papel importante, que va aclarándose con las modernas adquisiciones de la química biológica y fisiológica.-

Se encuentran principalmente en la membrana celular, y en el interior de las células.- Así los mitocondrios de la célula hepática, son de naturaleza lipídica.-

Las conocidas investigaciones de Overton, demuestran que la permeabilidad celular es una función de los lípidos.- Las sustancias que se disuelven con facilidad en los lípidos, penetran con rapidez en la célula.- Por otra parte la narcosis obedecería igualmente a una disolución de los lípidos en los anestésicos.-

Sin embargo muchos cuerpos que no son solubles en los lípidos, atraviesan la membrana celular.- La teoría de Overton refleja púes una parte del complicado mecanismo de la permeabilidad celular, donde intervienen multitud de factores.-

En lo referente a la narcosis, diremos que las ideas de Overton, han sido completadas por Damianovich, que supone, que la disolución lipóidica, es el primer paso de una acción más profunda, que consistiría, en la atenuación de las oxidasas del cerebro por los narcóticos.-

En sus trabajos clásicos Danilewsky probó que la lecitina actúa de una manera evidente en los procesos nutritivos.-

Influye activando el crecimiento de las plantas y de los animales.-

Desgrez, Saky y Carrière confirmaron la notable influencia de la lecitina cuando se la inyecta a los animales.- Sus conclusiones son las siguientes: Una aumento del peso de los animales y mayor apetito en ellos.- La úrea y el N urinario total, el coeficiente de utilización del N se encuentran aumentados, de una manera constante por la administración su-cutánea o estomacal de estas substancias.- Se observa simultáneamente una disminución del  $PO_4H_3$  eliminado por la orina.(1).- Carrière llegó a ciertos datos relativos a los elementos figurados de la sangre.-

El número de glóbulos rojos aumenta, la riqueza en hemoglobina se mantiene igual.- Los hematoblastos aumentan en número.- El número de leucocitos aumenta muy poco.-

En lo concerniente a la orina obtuvo los siguientes resultados: La cantidad de orina no aumenta.- 2 La reacción ácida disminuye un poco.- 3 La cantidad de úrea aumenta durante las primeras semanas, luego este aumento deja de hacerse sentir.- Al sexto mes la proporción vuelve a ser normal.- 4 Sucede lo mismo con el nitrógeno.- 5 El coeficiente de utilización del nitrógeno aumenta: al quinto mes se normaliza.- 6 El  $PO_4H_3$  disminuye los tres primeros meses, luego se normaliza.- 7 Los sulfatos permanecen inalterables.-

Stossano y Billon (3), también se ocuparon de la in-

---

(1) - Desgrez y A. Saky - C.R. p. 1512 - 1901 - 25  
(2) - G. Carrière - 1901 - 2 Sem. p. 314 - C.R.-  
(3) - C.R. - 1902 - 1 sem.- pág. 318

fluencia de la lecitina en los elementos figurados de la sangre.-

Concluyeron que el número de hematíes aumenta,- La resistencia de estas células es también mayor.-

Provoca un empuje particular de los mononucleados.-

Poehl (1) - encontró que la cerebrina favorece la excreción de leucocinas.-

También se han hecho ensayos sobre la influencia de algunos lípidos en los cultivos microbianos.- Ezio Calcaterra agregando pequeñas cantidades de lecitina a bacilos de Loeffler observó que se producía un crecimiento más lujuriente y que su virulencia se exaltaba.- Sucede lo contrario si las cantidades de lecitina son muy fuertes.-

En la inmunidad, los lípidos han adquirido una gran importancia.-

La inyección de lípidos a los animales produce intoxicaciones amenudo mortales.- La presión de la sangre baja considerablemente y puede ocurrir una coagulación intravascular.- Pero hay que tener en cuenta que solamente una inyección intravascular puede producir una intoxicación.- Los lípidos extraídos del mismo animal son inocuos para él.- A lo sumo podrán producir pequeñas perturbaciones.- Son los lípidos extraños los que obran como venenos violentos.-

La membrana de los bacterios tiene lípidos capaces de ejercer un efecto tóxico.- El bacilo de Koch ha sido el más estudiado en este sentido.- Sciolla De Giaccca y Hammerschlagg comprobaron que los extractos alcohólicos y etéreos del bacilo de la tuberculosis son tóxicos.- De Schweintg y Dorser aislaron una substancia que responde a las fórmulas  $C_7H_{10}O_4$ .- Auclair extrajo con éter substancia que reproducen algunas lesiones características de la tuberculosis.-

Según Flury los ácidos que provienen de la oxidación de la colecterina también son venenosos.-

Bogomalez sostiene que con yema de huevo es posible obtener accidentes anafilácticos.- Thielle y Embleston discuten la posibilidad de obtener la anafilaxia con los lipóides.-

Los lipóides poseen propiedades líticas y bactericidas intensas.- Desde hace mucho tiempo se sabía que los jabones, los ácidos grasos y la lecitina, podían hemolizar los glóbulos rojos de la sangre.-

Los ácidos grasos tienen una acción eficaz cuando no son saturados.-

Tarrasewitz, Korschun, Morgenroth, Levaditi, Wolfel y Noguchi, mediante tratamiento con alcohol, pudieron retirar de diferentes órganos de animales y principalmente del páncreas lipóides hemolíticos que resistían a la temperatura de ebullición.- Neguchi cree que son jabones.-

En la sangre hay ácidos grasos.- Si no tienen un poder hemolítico es probablemente porque la albúmina desempeña un papel defensivo.- Probablemente la albúmina adsorbe al jabón.- La defensa es particularmente intensa a 56º c. temperatura a la cual se neutraliza el poder fuertemente hemolítico de una mezcla de jabón y albúmina.-

Liebermann ha sido el defensor acérrimo de la teoría que atribuye al complemento una constitución lipóidica.- Para el investigador alemán el complemento está formado por un lipóide (tipo jabón), unido a una albúmina.- Las ideas de Liebermann fueron vivamente combatidas.- El hecho de que el éter destruye el complemento habla en contra de la tesis sustentada por Liebermann.-

Algunos autores han atribuido la anemia que ocurre en la infección por el botricéfalo a los lipóides de este parásito que producirían una hemólisis continua.-

El protagonismo puede disolver a los bacilos de Koch y la inmunidad especial del sistema nervioso es atribuida a éste cuerpo.-

Este punto ha sido relativamente poco estudiado.-

Del anquilostoma duodenal, también fué posible retirar un agente lipóidico hemolítico.-

Landsteiner y Raubtihshek, tratando cultivos del bacilo piociánico con alcohol y éter obtuvieron una materia fuertemente hemolítica.- Fukuara sostiene que los lipóides piociánicos son más fuertemente antiinfecciosos que los mismos bacilos.-

Del bacilo Putridum fué posible extraer un principio lipóidico activo.-

La lecitina comercial es hemolítica, pero no así los fosfatidos puros de la yema de huevo.-

Un hecho particularmente interesante en la historia de los lipóides, es la propiedad que tienen algunos de ellos de activar a ciertas toxinas.-

El caso más estudiado es el del veneno de cobra.- Algunos autores pensaron que en el veneno de cobra existe dos venenos distintos:- la neurotoxina y la hemolisina.- Otros como Overton y Bang creen contrariamente en la unidad del veneno de cobra, fundada en la identidad de comportamiento de estas dos substancias con respecto a ciertos agentes.-

Pero para que el veneno de cobra obre, tiene que encontrarse en presencia de lecitina.- Cual es el mecanismo de ésta acción? - Kyes creyó que la lecitina se combinaba con el veneno de cobra, para formar un cuerpo especial dotado de caracteres hemolíticos (lecitida) - Los recientes trabajos de Delezanne y permitieron precisar el mecanismo de la hemólisis por la cobra toxina.- En realidad la lecitida no existe.- Aparte de su carácter de fermento proteolítico, el veneno de cobra desdobra a la lecitina.- De esta descomposición fermentativa resulta una substancia muy parecida a los ácidos grasos y que produce la hemólisis.-

De Valle, Laroche y Grigaut lo mismo que Dold y Unger-



mann y Marie encontraron que la toxina diftérica, tetánica, ricínica y el veneno de cobra eran activadas por pequeñas cantidades de lecitina y por los lipóides del cerebro.- Este efecto consistiría en una abreviación del tiempo de incubación.- Los investigadores explicaron esta activación de acuerdo con la teoría de Overton y Meyer.- Los lipóides absorbidos por las toxinas facilitarían el pasaje de estas últimas através de la membrana celular.- Veremos más tarde hasta que punto se debe admitir estas conclusiones.-

Según investigaciones de Lawrow, los fosfatidos de la yema de huevo en pequeñas dosis, favorecen la toxicidad alcaloídica.- Operó con estricnina y curare.- En mayor dosis tienen un efecto contrario.-

Bang y Ellermann encontraron que la reacción cutánea de la tuberculina era activada por los lipóides.-

Ciertos lipóides actúan como antitoxinas.- Tal sucede con la colessterina que neutraliza a la saponina e impide la acción del veneno de cobra.-

Esto sucede porque la colessterina forma combinaciones de adsorción inactivas, con los agentes hemolíticos.-

Se cree que la colessterina contenida en la membrana de los glóbulos rojos tiene un papel defensivo en los procesos de este género.-

Abderhalden, Le Count, Hausmann y Walburn sostienen que esta propiedad de la colessterina, está ligada a la presencia de grupos oxiantrópicos en la molécula.-

La colessterina obra con intensidad máxima y regularmente, cuando afecta el estado coloidal.-

La colessterina, estimula a los fagocitos.-

Kobert y Meyerstein dicen que con la lecitina, cefalina y cerebrón es posible anular el poder hemolítico de la saponina.-

En la Reacción de Wassermann intervienen de una manera

muy importante los lipóides.-

El antígeno obra por los lipóides que contiene.-

Parecería que el hígado de los sífilíticos, tuviera lipóides de más fácil extracción, que en el de los sujetos normales.-

Por otra parte el extracto de órgano sífilíticos ha sido substituido con éxito por una cantidad de substancias (leche, lecitina, tuberculina, vaselina, extractos de corazón normal, protagón, etc.).-

En cuanto a la parte del suero que entra en juego, parecería ser una proteína labil.- Probablemente la euglobulina.- La extracción de los lipóides del suero sífilítico no altera la desviación del complemento,- Empero existe la sospecha de que los lipóides que se hallan en el suero de los sífilíticos, actúa conjuntamente con la parte protéica.- En la reacción de Wassermann, se utiliza suero calentado, y en estas condiciones los lipóides se unen a las proteínas.-

---

- PARTE EXPERIMENTAL -

- La estimulación diastásica por los lipóides -

La estimulación de la acción diastásica por los lipóides, es un punto no bien dilucidado, apesar de las investigaciones realizadas al respecto.-

Centanni (1) llegó a la conclusión de que los lipóides, de la yema de huevo, de la sangre, intestino, etc., aumentan el trabajo de la diastasa del hígado a la cual se han extraído los lipóides propios.-

Estos mismos lipóides del hígado pueden ejercer una acción estimulante.-

Al estudiar la influencia de la lecitina comercial sobre el proceso <sup>enzimático</sup>, H. Lapidus (2) encontró que esta sustancia, retardaba la acción de la ptialina y de la diastasa del pancreas.-

Este fenómeno era más acentuado a la temperatura ambiente que a la del cuerpo humano.-

Para Starkenstein (3) no existe diferencia apreciable entre el trabajo de la diastasa del hígado que contiene lipóides y la del mismo órgano privado de estas sustancias, por extracción mediante el toluene, alcohol y éter.-

Si los extractos de yema de huevo y la lecitina comercial inhiben la acción diastásica, es debido a su acidez.-

Para Vernon la actividad de ciertas oxidases se encuentra estrechamente relacionada con la presencia de lipóides a los que se encuentran unidos (4)

Por fin diremos que según Ferrouine, la lecitina no aumenta la hidrólisis de la monobutirina por el jugo pancreático.-  
Unicamente en soluciones concentradas, tiene un pequeño efecto

(1) - Bioch. Zeitsch. 1910 - 29.- (2) - Bioch. Zeitsch. 1910 - 30 - 29 - 55 - (3) Bioch - Zeitsch - 1912 - 33 - 423 - 435.- (4) - Bioch.- Zeitsch.- 1912 - 47 - 374 - 395.-

estimulante sobre la descomposición enzimática de los aceites.-

Tampoco tiene influencia sobre la hidrólisis del almidón, la digestión de la caseína o de la albúmina coagulada y sobre la coagulación de la leche por el jugo pancreático.- (1)

En nuestro trabajo, estudiamos, la influencia de diferentes tipos de lipóides sobre la acción de la catalasa del hígado.-

#### METODO DE TRABAJO -

La descomposición del agua oxigenada, se siguió mediante el aparato de Neveu (fig.1).- En la parte central (A), se colocaba la diastasa diluida y los lipóides.- El agua oxigenada contenida en el tubo lateral (B) se ponía en contacto con la enzima y el O desprendido era recogido en una probeta graduada (C).

Cada medio minuto o minuto se anotaba el volumen de oxígeno puesto en libertad.-

Como se operaba siempre en idénticas condiciones y se trataba de observar únicamente la velocidad de desprendimiento del gas, este aparato llenaba cumplidamente su objeto.-

La diastasa fué extraída en la forma siguiente:

Un hígado de vaca perfectamente desmenuzado, se dejaba durante cuatro horas en maceración acuosa.- Luego de filtrar a través de un lienzo, se añadía al líquido que pasaba su volumen de alcohol a 96%.- La diastasa se recogía en un filtro y se encontraba lista para ser usada.- De esta manera obteníamos una catalasa impura pero muy activa.-

Trabajamos con los siguientes lipóides: jabones, protagón, colessterina y lecitina.comercial.- Además ensayamos sueros normales y sífilíticos.-

---

(1) - Terroine.- Bioch. Zeitsch. 1911 - 35 - 506.-

- INFLUENCIA DE LOS JABONES -



Tomamos como tipo a un jabón no saturado: el oleato sódico.-

Esta substancia aún en pequeñas proporciones, actúa negativamente sobre la descomposición del agua oxigenada por la catalasa.- Retarda visiblemente la velocidad de desprendimiento del oxígeno.- Semejante acción es particularmente acentuada a medida que se aumenta la concentración del jabón.-

El jabón de Marsella también inhibe el trabajo de la catalasa.-

Estos resultados concuerdan con los trabajos hechos últimamente con la tripsina.- Los jabones no saturados inhiben la acción triptica.-

Damos a continuación algunos cuadros que ponen de manifiesto el poder de los jabones.-

La solución de oleato sódico se obtuvo por disolución de 0,4 gr. de oleato sódico ( ) en 100 cc. de agua alcoholizada.-

Rest.	10 cc.H <sub>2</sub> O, 10-cc.H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (12 vol.) + Catalasa.-	10-cc.H <sub>2</sub> O, 10 cc.H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (12 vol.) + Catalasa.+ 1 gota sol. oleato sódico	
Tiempo	cc.de O	Tiempo	cc.de O
½	3	½	1
1'	5	1'	2
1½	7	1½	3
2'	8	2'	4
2½	9	2½	4½

10 cc.H<sub>2</sub>O, 10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (12 vol.)  
+ Catalasa + 0.5 cc.Solución  
oleato sódico.-

8 cc.H<sub>2</sub>O + 10 CC.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (12 vol.) +  
Catalasa.-+ 2 cc.Soluc.oleat.sódico

Tiempo	cc.de O
½'	1
1'	2
1½'	2½
2'	3
2½'	3½

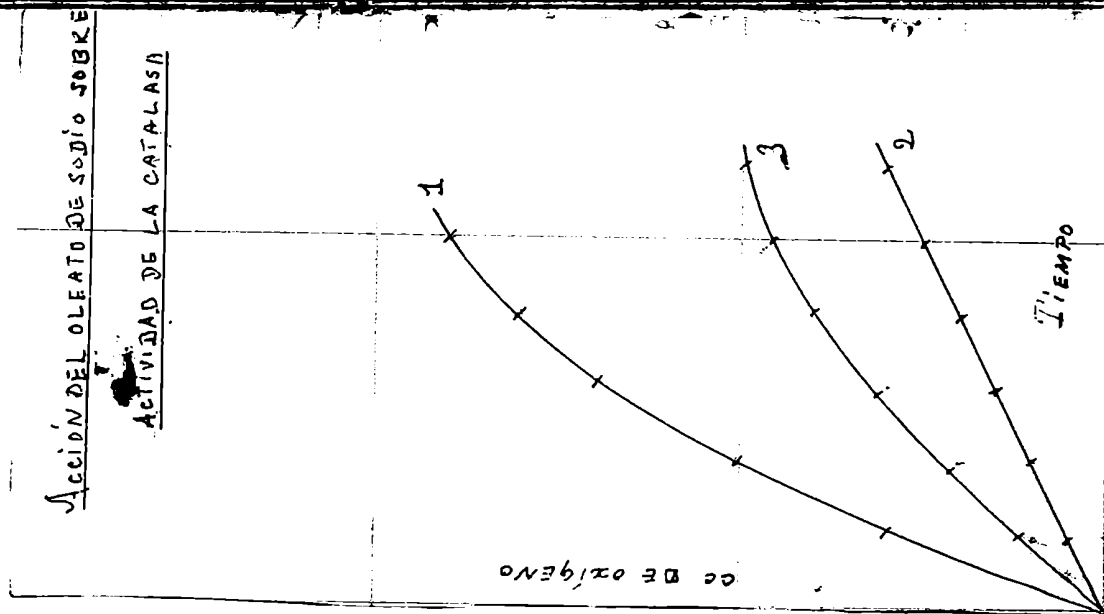
Tiempo	cc.de O
½'	1
1'	2
1½'	3
2'	4
2½'	4½

5 cc.H<sub>2</sub>O + 10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (12 vol.)  
+ catalasa + 5 cc.solución o-  
leato sódico.-

10 cc.solución oleato sódico +  
10 cc. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (12 vol.) + catala-  
sa.-

Tiempo	cc.de O
½'	½
1'	1
1½'	1½
2'	2
2½'	2½

Tiempo	cc.de O
½'	½
1'	1
1½'	1½
2'	2
2½'	2½



En este diagrama la curva I, representa el desprendimiento de O en el experimento testigo; en la II, se observa la acción deprimente de de jabón.- En la III, el efecto negativo de <sup>5cc</sup> <sub>4gta</sub> la <sup>10gta</sup> oleato sódico

Los datos que damos a continuación se refieren a la influencia del jabón de Marsella en pequeñas dosis.- Se constató que la solución de jabón era neutra.- La solución de jabón tenía una concentración de 1°/cc.

10 cc.H<sub>2</sub>O + 10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(12 vol.) + Catalasa.-

10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 9 cc.H<sub>2</sub>O + 1 cc.solución jabón + Catalasa.-

Tiempo	cc.de O
½'	27
1'	37
1½'	46
2'	55
2½'	63

Tiempo	cc.de O
½'	21
1'	31
1½'	39
2'	45
2½'	59

8 cc.H<sub>2</sub>O + 10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>+ 2 cc.solución jabón + Catalasa.

7 cc.H<sub>2</sub>O + 10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(12 vol.) + 3 cc. solución jabón + Catalasa.-

Tiempo	cc.de O
½'	21
1'	30
1½'	39
2'	46
2½'	52

Tiempo	cc.de O
½'	18
1'	28
1½'	35
2'	41
2½'	46

6 cc.H<sub>2</sub>O + 10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(12 vol.) + 4 cc. solución jabón + Catalasa.-

Tiempo	Cc.de O
½'	19
1'	28
1½'	35
2'	42
2½'	48

- ESTIMULACION POR EL PROTAGON -

-----

El protagón usado en estos experimentos se preparó como sigue:

El cerebro de vaca el cual se ha quitado cuidadosamente la sangre, es reducido a pedazos muy pequeños, que luego son puestos en digestión con alcohol a 85 %, durante 12 horas; se filtra sobre algodón y se trata de nuevo por alcohol.-

Esta operación se repite 4 o 5 veces.- La solución filtrada da por enfriamiento un precipitado coposo, blanco que no es sino protagón impuro.- Estos precipitados reunidos en un filtro son tratados por éter que disuelve a la colessterina.- La parte que queda sobre el filtro es exprimida entre dos hojas de papel de filtro y secada en el vacío.-

La materia seca mojada con un poco de agua se pone en suspensión en alcohol a 85 %; luego la mezcla es calentada suavemente a 45°.- Se filtra y por enfriamiento el protagón se precipita en agujas microscópicas que se recogen sobre un filtro y se secan en presencia de  $P_2O_5$ .-

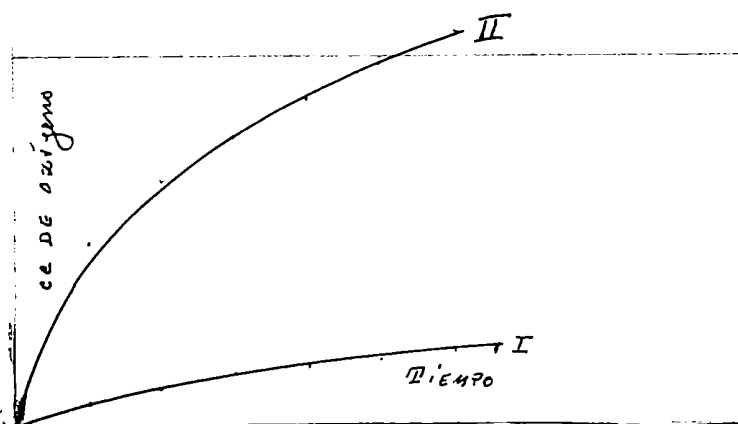
El protagón ejerce una estimulación intensa en la descomposición del agua oxigenada a 12 volúmenes por la catalasa del hígado.- Esta estimulación puede ser realizada por dosis extremadamente débiles de protagón.- un centésimo de milígramo de protagón actúa de una manera marcada.- La activación de la diastasa es mayor a medida que se aumenta la concentración del protagón.(Esto para las concentraciones que hemos empleado).- Además, hay que observar que la estimulación diastásica se produce en el comienzo de la reacción, es decir durante el período de inducción como se le llama en físico-química.-

Los cuadros que se encuentran más abajo demuestran el comportamiento especial del protagón.-



10 cc.H <sub>2</sub> O + 10 cc.H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (12 vol.) + Catalasa.-		9 cc.H <sub>2</sub> O + 10 cc.H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (12 vol.) + 1 cc. solución protagón (0.00002) mg. + Catalasa.-	
Tiempo	Cc.de O	Tiempo	cc. de O
½'	3	½'	25
1'	5	1'	33
1½'	7	1½'	39
2'	8	2'	44
2½'	9	2½'	49
3'	10	3'	53

Estimulación POR EL PROTAGÓN



En este diagrama la curva I corresponde al testigo; la II a la catalasa activada por 0,00002 mg. de protagón.- El agua oxigenada se había neutralizado previamente.-

Los datos que damos a continuación han sido obtenidos con cantidades crecientes de protagón y empleando agua oxigenada no neutralizada.-

10 cc.H<sub>2</sub>O + 10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (12 vol.)  
+ Catalasa.-

10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (12 vol.) + 8 cc.  
H<sub>2</sub>O + 0,00002 mg.de protagón.+  
Catalasa.-

Tiempo	cc.de O
1.....	4
2'.....	8
3'.....	13
4'.....	20
5'.....	27
6'.....	34

Tiempo	cc.de O
1.....	8
2'.....	18
3'.....	25
4'.....	32
5'.....	38
6'.....	44

7 cc.H<sub>2</sub>O + 10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (12 vol.)  
+ 0,00003 mg. de protagón +  
Catalasa.-

6 cc. H<sub>2</sub>O + 10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (12 vol.)+  
0,00004 mg. protagón.- + Catalasa.

Tiempo	cc.de O
1'.....	15
2'.....	24
3'.....	32
4'.....	41
5'.....	48
6'.....	55

Tiempo	cc.de O
1'.....	17
2'.....	26
3'.....	30
4'.....	43
5'.....	51
6'.....	59

cc. H<sub>2</sub>O + 10 cc. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (12 vol.)  
+ 0,00005 mg.protagón.+ Catalasa.

4 cc.H<sub>2</sub>O + 10 cc. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (12 vol.)+  
0,00006 mg. de protagón.+ Catalasa

Tiempo	cc. de O
1'.....	17
2'.....	26
3'.....	36
4'.....	44
5'.....	52
6'.....	59

Tiempo	cc.de O
1'.....	17
2'.....	21
3'.....	34
4'.....	42
5'.....	52
6'.....	59

3 cc.H<sub>2</sub>O + 10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (12 vol.)  
+ 0,00007 mg.de protagón.+  
Catalasa.-

10 cc. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (12 vol.) + 2 cc.  
H<sub>2</sub>O + 0,00008 mg.de protagón  
+ Catalasa.-

Tiempo	cc.de O
1'.....	17
2'.....	26
3'.....	34
4'.....	43
5'.....	52
6'.....	59

Tiempo	cc.de O
1'.....	17
2'.....	26
3'.....	35
4'.....	43
5'.....	51
6'.....	59

10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (12 vol.) + 1mg.prota-  
gón + Catalasa.-

Tiempo	cc. de O
1'.....	17
2'.....	27
3'.....	36
4'.....	46
5'.....	52
6'.....	59

10 cc.H<sub>2</sub>O + 4 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + Catalasa

10 cc.H<sub>2</sub>O + 10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (12 vol.)  
+ 1 gota solución protagón +  
Catalasa.-

Tiempo	cc.de O
½'.....	2
1'.....	3½
1½'.....	5
2'.....	6
2½'.....	7

Tiempo	cc.de O
½'.....	13
1'.....	19
1½'.....	23
2'.....	25
2½'.....	27

9 cc. H<sub>2</sub>O + 4 cc. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (12 vol.)  
+ 1/2 cc. solución de protagón +  
Catalasa.-

8 cc. H<sub>2</sub>O + 4 cc. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (12 vl.)  
+ 2 cc. solución protagón.+  
Catalasa.-

Tiempo	cc. de O
1/2'	15
1'	22
1 1/2'	26
2'	30
2 1/2'	33

Tiempo	cc. de O
1/2'	15
1'	24
1 1/2'	27
2'	31
2 1/2'	35

7 cc. H<sub>2</sub>O + 4 cc. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (12 vol.)  
+ 3 cc. solución protagón +  
Catalasa.-

5 cc. H<sub>2</sub>O + 4 cc. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (12 vol.)  
+ 5 cc. solución protagón +  
Catalasa.-

Tiempo	cc. de O
1/2'	15
1'	22
1 1/2'	26
2'	30
2 1/2'	33

Tiempo	cc. de O
1/2'	16
1'	22
1 1/2'	27
2'	31
2 1/2'	34

10 cc. Solución de protagón +  
4 cc. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (12 volúmenes) +  
Catalasa.-

Tiempo	cc. de O
1/2'	15
1'	22
1 1/2'	26
2'	30
2 1/2'	33

Los 5 último cuadros se obtuvieron operando con agua oxigenada neutra.- La solución de Protagón se obtuvo agitando 0,4000 de protagón en 100 cc. de agua.-

Cuando la catalasa del hígado actúa sobre agua oxigenada diluida, el protagón tiene una acción insignificante como lo demuestran los datos que damos a continuación:

10 cc. H <sub>2</sub> O + 10 cc. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (diluida) + Catalasa.-		10 cc. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 9 cc. H <sub>2</sub> O + 0,0001 mg. de protagón + Catalasa.-	
Tiempo	cc. de O	Tiempo	cc. de O
½'	1	½'	1
1'	1½	1'	1½
1½'	2	1½'	2
2'	2½	2'	2½
2½'	3	2½'	3

8 cc. H <sub>2</sub> O + 10 cc. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 0,0002 mg. de protagón + catalasa.-		7 cc. H <sub>2</sub> O + 10 cc. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 0,0003 mg. protagón + Catalasa.-	
Tiempo	cc. de O	Tiempo	cc. de O
½'	1	½'	1½
1'	2	1'	2½
1½'	3	1½'	3
2'	2½	2'	3½
2½'	3	2½'	4

10 cc. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 6 cc. H <sub>2</sub> O + 0,0004 protagón + catalasa.-		10 cc. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 5 cc. H <sub>2</sub> O + 0,0005 protagón + Catalasa.	
Tiempo	cc. de O	Tiempo	cc. de O
½'	1½	½'	1½
1'	2½	1'	2½
1½'	3	1½'	3
2'	3	2'	3½
2½'	3½	2½'	3½

10 cc. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 4 cc. H<sub>2</sub>O +  
0,00006 mg. protagón +  
Catalasa.-

10 cc. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 3 cc. H<sub>2</sub>O +  
0,00007 mg. protagón +  
Catalasa.-

Tiempo	cc. de O
½'	2
1'	3
1½'	3½
2'	4
2½'	4

Tiempo	cc. de O
½'	2
1'	3
1½'	3½
2'	3½
2½'	4

*protagón*  
10 cc. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 1 mg. + Catalasa

Tiempo	cc. de O
½'	2½
1'	3
1½'	3½
2'	3½
2½'	4

INFLUENCIA DEL ION OH EN LA ACTIVACION DE LA CATALASA POR EL PROTAGON

La activación de la catalasa del hígado por el protagón se efectúa con mayor eficacia, en medio alcalino que en medio ácido.

Damos los datos siguientes:

Testigo: 10 cc. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (12 vol.) +  
10 cc. H<sub>2</sub>O + Catalasa.

10 cc. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 9 cc. H<sub>2</sub>O +  
0,00002 mg. protagón +  
Catalasa.-

Tiempo	cc. de O
½'	3
1'	5
1½'	7
2'	8

Tiempo	cc. de O
½'	24
1'	31
1½'	37
2'	46

10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 9,7 cc.H<sub>2</sub>O +  
0,3 cc.Na(OH)  $\frac{N}{10}$  + Catalasa.-

10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 8 cc.H<sub>2</sub>O +  
0,3 cc.Na(OH)  $\frac{N}{10}$  + 0,00002  
mg.protagón + Catalasa.-

Tiempo	cc.de O
½'	2
1'	3
1½'	4
2'	5
2½'	6

Tiempo	cc.de O
½'	11
1'	15
1½'	17
2'	19
2½'	22

10 cc. de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 8 cc H<sub>2</sub>O +  
1 cc.Na(OH)  $\frac{N}{10}$  + Catalasa.

10 cc. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 8 cc.H<sub>2</sub>O +  
0,00002 mg.protagón +  
1 cc.Na.(OH)  $\frac{N}{10}$  + Catalasa.

Tiempo	cc.de O
1'	0
2'	1
3'	1
4'	1
5'	2
6'	2

Tiempo	ccde O
1'	1
2'	2
3'	3
4'	4
5'	5
6'	6

En estos dos últimos cuadros, se observa que cuando la dosis de hidrato sódico molesta a la diastasa el protagón ejerce una verdadera protección.-

INFLUENCIA DEL ION H EN LA ACTIVACION DE LA CATALASA DEL HIGADO POR EL PROTAGON.-

stigo: 10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (12 vol.) +  
10 cc. H<sub>2</sub>O + Catalasa.

10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 9 cc.H<sub>2</sub>O +  
0,00002 mg. protagón +  
Catalasa.-

Tiempo	cc.de O
½'	5
1'	8
1½'	11
2'	15
2½'	25
3'	38

Tiempo	cc.de O
½'	40
1'	52
1½'	61
2'	69
2½'	75
3'	79

10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 10 cc.H<sub>2</sub>O +  
0,2 cc.HCl  $\frac{N}{10}$  + Catalasa.

10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 9 cc.H<sub>2</sub>O + 0,2  
cc.HCl  $\frac{N}{10}$  + 0,00002 mg.prota-  
gón + Catalasa.-

Tiempo	cc.de O	Tiempo	cc.de O
½'	2	½'	11
1'	3	1'	24
1½'	5	1½'	35
2'	7	2'	42
2½'	9	2½'	51
3'	14	3'	58

10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 9 cc.H<sub>2</sub>O +  
0,4 HCl  $\frac{N}{10}$  + Catalasa.

10 cc. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 8,6 cc.H<sub>2</sub>O +  
0,4 cc.HCl  $\frac{N}{10}$  + 0,00002 mg.  
Protagón + Catalasa.-

Tiempo	cc.de O	Tiempo	cc.de O
½'	1	½'	1
1'	3	1'	5
1½'	7	1½'	10
2½'	14	2½'	18
3'	18	3'	22

10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 9 cc. H<sub>2</sub>O +  
0,5 cc.HCl  $\frac{N}{10}$  + Catalasa.

10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 8 cc.H<sub>2</sub>O + 0,5  
cc.HCl  $\frac{N}{10}$  + 0,00002 mg.de  
protagón + Catalasa.-

Tiempo	cc.de O	Tiempo	cc.de O
1'	1	1'	1
2'	1	2'	1
3'	1	3'	2
4'	2	4'	3
5'	3	5'	4
6'	4	6'	6



10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 8,5 cc.H<sub>2</sub>O +  
1,5cc HCl  $\frac{1}{10}$  + Catalasa.

10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 7,5 cc.H<sub>2</sub>O  
+ 1,5cc.HCl  $\frac{1}{10}$  + 0,00002  
mg.protagon + Catalasa.

No hubo desprendimiento de O

No hubo desprendimiento de O

De lo que antecede se deduce que el protagon puede defender a la catalasa contra la acción negativa del ión H.- Sin embargo, cuando la concentración del ácido llega a un cierto límite el protagon no tiene ningún efecto.-

INFLUENCIA DE LOS ELECTROLITOS EN LA ACTIVACION DE LA CATALASA POR EL PROTAGON.-

10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 10 cc.H<sub>2</sub>O +  
Catalasa.

10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 9 cc.H<sub>2</sub>O +  
0,00002 mg.protagon +  
Catalasa.-

Tiempo	cc.de O
$\frac{1}{2}$ '	9
1'	16
2'	35
2 $\frac{1}{2}$ '	45

Tiempo	cc.de O
$\frac{1}{2}$ '	40
1'	51
2'	69
2 $\frac{1}{2}$ '	75

10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 9 cc.H<sub>2</sub>O +  
1 cc.Ba(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (7%) + Catalasa.

10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 9 cc. H<sub>2</sub>O +  
1 cc.Ba(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (7%) +  
0,00002 mg.protagon + Cat.

Tiempo	cc.de O
$\frac{1}{2}$ '	10
1'	20
1 $\frac{1}{2}$ '	25
2'	29
2 $\frac{1}{2}$ '	32
3'	35

Tiempo	cc.de O
$\frac{1}{2}$ '	30
1'	35
1 $\frac{1}{2}$ '	40
2'	42
2 $\frac{1}{2}$ '	45
3'	47

INFLUENCIA DEL  $\text{SO}_4\text{Na}_2$ .-

Testigo:	10 cc. $\text{H}_2\text{O}_2$ + 10 cc. $\text{H}_2\text{O}$ + catalasa.-	10 cc. $\text{H}_2\text{O}_2$ (12 vol.) + 8 cc. solución $\text{SO}_4\text{Na}_2$ (10 %) + 2 cc. $\text{H}_2\text{O}$ + Catal
----------	---	---

<u>Tiempo</u>	<u>cc. de O</u>	<u>Tiempo</u>	<u>cc. de O</u>
½'	9	½'	19
1'	16	1'	30
1½'	23	1½'	40
2'	35	2'	48
2½'	45	2½'	55
3'	52	3'	60

10 cc.  $\text{H}_2\text{O}_2$  + 7 cc.  $\text{H}_2\text{O}$   
+ 2 cc.  $\text{SO}_4\text{Na}_2$  + 1 cc.  
0,00002 mg. protagón +  
catalasa.-

10 cc.  $\text{H}_2\text{O}_2$  + 0,00002  
mg. protagón + 9 cc.  
 $\text{SO}_4\text{Na}_2$  + catalasa.-

<u>Tiempo</u>	<u>cc. de O</u>	<u>Tiempo</u>	<u>cc. de O</u>
½'	40	½'	41
1'	50	1'	50
1½'	60	1½'	59
2'	67	2'	62
2½'	71	2½'	64
3'	75	3'	66

10 cc.  $\text{H}_2\text{O}_2$  + 9 cc.  $\text{SO}_4\text{Na}_2$  +  
1 cc.  $\text{H}_2\text{O}$  + catalasa.-

<u>Tiempo</u>	<u>cc. de O</u>
½'	17
1'	29
1½'	37
2'	41
2½'	45
3'	49

INFLUENCIA DEL SO<sub>4</sub>Cu.-

10 cc.H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 8 cc.H <sub>2</sub> O + 2 cc.solución SO <sub>4</sub> Cu (10 %) + catalasa.-	10 cc.H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 7 cc. H <sub>2</sub> O + 2 cc.SO <sub>4</sub> Cu + 0,00002 m.g.protagón + catalasa.-
--	---

<u>Tiempo</u>	<u>cc.de O</u>	<u>Tiempo</u>	<u>cc.de O</u>
½'	2	½'	14
1'	4	1'	17
1½'	6	1½'	21
2'	8	2'	23
2½'	25	2½'	10
3'	12	3'	27

10 cc.H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 9,5 cc.H <sub>2</sub> O + 0,5 cc. SO <sub>4</sub> Cu + catala- sa.-	10 cc.H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 8,5 cc. H <sub>2</sub> O + 0,5 cc.SO <sub>4</sub> Cu + 0,00002 mg.protagón + catalasa.-
---	--

<u>Tiempo</u>	<u>cc.de O</u>	<u>Tiempo</u>	<u>cc.de O</u>
½'	5	½'	20
1'	7	1'	27
1½'	10	1½'	31
2'	14	2'	35
2½'	17	2½'	47
3'	20	3'	40

INFLUENCIA DEL Cl<sub>2</sub>Ca.

10 cc.H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 10 cc.H <sub>2</sub> O + catalasa.-	10 cc.H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 7 cc.H <sub>2</sub> O + 5 cc.solución Cl <sub>2</sub> Ca + 0,00002 mg.prot.+ catal.
--	---

<u>Tiempo</u>	<u>cc.de O</u>	<u>Tiempo</u>	<u>cc.de O</u>
½'	7	½'	15
1'	11	1'	18
1½'	14	1½'	20
2'	19	2'	22
2½'	24	2½'	24

Testigo:

10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 8 cc.H<sub>2</sub>O +  
2 cc.Cl<sub>2</sub>Ca + catalasa.

10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 7 cc.H<sub>2</sub>O + 2 cc.  
Cl<sub>2</sub>Ca + 0,00002 mg.protagón  
+ catalasa.-

<u>Tiempo</u>	<u>cc.de O</u>	<u>Tiempo</u>	<u>cc.de O</u>
½'	4	½'	24
1'	6	1'	28
1½'	9	1½'	32
2'	19	2'	36
2½'	15	2½'	39
3'	18	3'	42

10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 4 cc.H<sub>2</sub>O +  
5 cc.Cl<sub>2</sub>Ca + 0,00002 mg.  
protagón + catalasa.-

10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 9 cc.H<sub>2</sub>O +  
0,00002 mg.protagón : cata-  
lasa.-

<u>Tiempo</u>	<u>cc.de O</u>	<u>Tiempo</u>	<u>cc.de O</u>
½'	15	½'	30
1'	19	1'	40
1½'	21	1½'	50
2'	24	2'	58
2½'	26	2½'	65
3'	28	3'	70

10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 5 cc.H<sub>2</sub>O + 5 cc.  
Cl<sub>2</sub>Ca + catalasa.-

<u>Tiempo</u>	<u>cc.de O</u>
½'	4
1'	5
1½'	6
2'	7
2½'	8
3'	9

ACCION DE LA COLESTERINA SOBRE LA CATALASA ACTIVADA POR EL PROTAGON .-

Testigo -

10 cc. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 9 cc. H <sub>2</sub> O + catalasa.	10 cc. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 10 cc. H <sub>2</sub> O + 0,00002 mg. protagón + catalasa.
---	---

<u>Tiempo</u>	<u>cc. de O</u>	<u>Tiempo</u>	<u>cc. de O</u>
½'	21	½'	55
1'	37	1'	66
1½'	50	1½'	72
2'	60	.....	.....
2½'	62	.....	.....
3'	72	.....	.....

10 cc. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 6 cc. H <sub>2</sub> O + 2 cc. solución colessterina + 0,00002 mg. protagón + catalasa.-	10 cc. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 3 cc. H <sub>2</sub> O + 5 cc. colessterina + 0,00002 mg. protagón + catalasa.-
---	--

<u>Tiempo</u>	<u>cc. de O</u>	<u>Tiempo</u>	<u>cc. de O</u>
½'	32	½'	27
1'	40	1'	35
1½'	48	1½'	42
2'	55	2'	49
2½'	62	2½'	55

INFLUENCIA DE LOS SUEROS NORMALES Y SIFILITICOS.-

Testigo:

10 cc. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 5 cc. H <sub>2</sub> O + catalasa.	10 cc. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 5 cc. H <sub>2</sub> O + 0,2 cc. suero buey + catalasa.-
---	---

<u>Tiempo</u>	<u>cc. de O</u>	<u>Tiempo</u>	<u>cc. de O</u>
½'	42	½'	31
1'	63	1'	66
1½'	82	1½'	90
2'	91	2'	102
2½'	95	2½'	107

stigo:

10 cc.H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 5 cc.H <sub>2</sub> O + catalasa.-		10 cc.H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 5 cc.H <sub>2</sub> O + 1 gota suero de caballo + catalasa.-	
Tiempo	cc.de O	Tiempo	cc.de O
½'	32	½'	32
1'	58	1'	62
1½'	75	1½'	80
2'	87	2'	92
2½'	92	2½'	97

Test.

10 cc.H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 10 cc.H <sub>2</sub> O + catalasa.-		10 cc.H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 10 cc.H <sub>2</sub> O + 1 gota suero de sifilítico + catalasa.-	
Tiempo	cc.de O	Tiempo	cc.de O
½'	7	½'	7
1'	10	1'	11
1½'	13	1½'	15
2'	16	2'	18
2½'	19	2½'	22
3'	22	3'	26

10 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 10 cc.H<sub>2</sub>O + 3 gotas suero sifilítico + Catalasa.-

Tiempo	cc.de O
½'	6
1'	10
1½'	14
2'	18
2½'	22
3'	27

Como puede verse por estos cuadros, el suero normal lo mismo que el sifilítico, no activan visiblemente a la catalasa.-

ACCION DE LA COLESTERINA SOBRE LA DESCOMPOSICION DEL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> POR LA CATALASA DEL HIGADO.-

La colessterina como puede verse en los cuadros de más abajo no activa en pequeñas proporciones a la catalasa.-

Testigo:	10 cc.H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 10 cc.H <sub>2</sub> O + catalasa.	10 cc.H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 9 cc.H <sub>2</sub> O + 1 cc.solución colessterina + catalasa.-
----------	--	---

<u>Tiempo</u>	<u>cc.de O</u>	<u>Tiempo</u>	<u>cc.de O</u>
1'.....	2	1'.....	3
2'.....	3	2'.....	4
3'.....	5	3'.....	7
4'.....	7	4'.....	11
5'.....	11	5'.....	15
6'.....	16	6'.....	20

---

El agua oxigenada era de 12 volúmenes.- La solución de colessterina se obtuvo emulsionando 0,01 gr. de colessterina ( *Kaplan* ) en 100 cc.de H<sub>2</sub>O.-

*Kaplan*

INFLUENCIA DE LA LECITINA COMERCIAL.-

10 cc.H<sub>2</sub>O + 4 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> +  
Catalasa.-

9 cc.H<sub>2</sub>O + 4 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (12  
vol.)+ 1 cc.solución lecitina  
+ catalasa.-

<u>Tiempo</u>	<u>cc.de O</u>	<u>Tiempo</u>	<u>cc.de O</u>
½'	4	½'	5
1'	5	1'	6
1½'	6½	1½'	7
2'	7	2'	8
2½'	8	2½'	8½

10 cc.solución lecitina +  
4 cc.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + catalasa.-

<u>Tiempo</u>	<u>cc.de O</u>
½'	7
1'	8
1½'	8½
2'	9
2½'	9½

Como puede verse por los cuadros anteriores, en pequeñas dosis, la lecitina comercial (Merck), no activa a la catalasa del hígado, sensiblemente. - *La lecitina se obtiene emulsionando*

*0.4 gr de esta sustancia en 100 cc H<sub>2</sub>O.*

MECANISMO DE LA ACTIVACION DISTASICA POR LOS LIPOIDES.-

Cual es la causa de la activación de la catalasa del hígado por el protagón.- Podría suponerse que se realiza por una modificación física del medio (tensión superficial y viscosidad); sin embargo las débiles dosis requeridas para esta estimulación alejan semejante sospecha.- Con el objeto de precisar este punto hice varias medidas de tensión superficial y viscosidad de los sistemas H<sub>2</sub>O + protagón, sin observar ningún cambio en la tensión superfi-

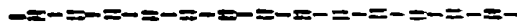


cial y en la viscosidad.- El protagón tenía una concentración de 0,00002mg.-

Probablemente el fenómeno obedece a una estabilización de la diastasa de naturaleza coloidal por el lipóide, lo que la coloca en óptimas condiciones para realizar su trabajo.-

---

LA PARTENOGENESIS ARTIFICIAL Y LAS ESTIMULACIONES DIASTASICAS



La partenogénesis artificial iniciada por los trabajos de Tichomiroff en 1866, tiene aparte de su importancia biológica un gran interés para la patología ya que el desarrollo de un huevo vírgen por exáitantes artificiales, posee una marcada analogía con la proliferación de las células cancerosas por un estímulo desconocido.-

Los medios más variados fueron empleados para obtener la partenogénesis artificial: agitación mecánica, acción de las soluciones hipertónicas, influencia de las radiaciones del radio, etc..-

Se comprende que en presencia de factores tan diversos, las teorías más variadas se disputen la explicación del fenómeno.-

J. Loeb a quien se deben los primeros trabajos sobre partenogénesis de óvulos de equinodermos, llegó a la siguiente teoría:

Cuando en la fecundación natural, el espermatozóide penetra en el óvulo se forma en la periferia de éste, una zona hialina limitada por una membrana transparente, verdadera barrera para los otros espermatozoides.-

Esta primera etapa es una liquefacción o sea una citólisis de la región superficial del óvulo, por una liqúina aportada por el espermatozóide.- Pero esta citólisis queda bien pronto limitada. Por tratamiento de los huevos de erizo de mar, con soluciones de ácidos grasos (ácido fórmico, acético, butírico, valerianico, etc.) se forma una membrana al rededor del huevo, lo mismo que en la fecundación natural; pero si no se detiene la acción de los ácidos, la citólisis prosigue rápidamente y el huevo muere.- Sumergiendo al huevo en soluciones hipertónicas se consigue salvarlo.-

Para Loeb en la activación de un óvulo trae como consecuencia un aumento de las oxidaciones.- En la fecundación natural se establece un ritmo entre la rapidez de los procesos de citólisis y los de oxidación, lo que no sucede en el tratamiento con los

ácidos grasos.- Ahora bien, si se inhibe temporariamente, las oxidaciones (por permanencia durante un cierto tiempo, en una solución débil de CNK o en una solución hipertónica) el óvulo no sufre y se cura.-

Delage criticó vivamente a ésta concepción y emitió otra teoría.- Según Delage, el desarrollo de un óvulo puede considerarse como una serie de coagulaciones y liquefacciones alternadas, de los coloides que lo forman.-

La formación de una membrana alrededor del óvulo sería por ejemplo una coagulación y la desaparición de la membrana, una liquefacción.- Espontáneamente el óvulo es incapaz de comenzar todo este proceso; pero si se inicia por una causa favorable sigue su curso automáticamente.-

El investigador francés por el empleo alternado de sustancias coagulantes (ácidos) y citolíticas (bases) obtuvo excelentes resultados.-

Batallón pinchando óvulos de rana con una aguja muy fina de platino o de manganina consiguió su desarrollo.- Al principio, explicó este curioso método admitiendo una deshidratación y una eliminación de sustancias nocivas.- Más tarde se dió cuenta que la causa del fenómeno residía en la sangre que acompañaba al óvulo.-

Si se sumergen los óvulos durante tres o cuatro horas en una solución de CM K al 8,8 % y luego se lavan (1 hora) en una solución de CNa al 7 % y si después se los pica con la aguja, no se obtiene una sola segmentación normal.- Si se los pone en contacto con una substancia orgánica como la pulpa, freca de coballo y después se les pica comienzan a segmentarse regularmente.-

Por experimentos muy precisos, pudo demostrar que los elementos activos de la sangre, son los fagocitos.- El suero no tiene ningún efecto; los glóbulos rojos a los cuales se encuentran mezclados algunos leucocitos, producen el uno por ciento de segmentación.- En cambio los leucocitos pueden provocar un desarrollo del 75 %.-

Batallón, cree, que la substancia activa es un catalizador orgánico que provoca la formación de la figura careocinótica.- Señaló al núcleo de los fagocitos como el cuerpo dotado de esta propiedad.-

Lillie, ha tratado de dar una teoría general de la partenogénesis experimental.- Según este autor todos los reactivos partenogénéticos alteran la permeabilidad de la membrana celular, lo que trae como consecuencia una doble modificación física y química.- La primera, consiste, en una salida de aniones que produce la caída de potencial característica y un aumento de la tensión superficial de la membrana.- La segunda, consiste en un desprendimiento mayor de anhídrido carbónico, y por lo tanto una activación de las oxidaciones.-

Lillie, supone que el aumento de tensión superficial ocurre únicamente en los polos; el radio de curvatura se vuelve pues más pequeño en esta región y se producen abultamientos mientras que la zona ecuatorial permanece relativamente plana.- Al acentuarse esta diferencia, tiene lugar un estrangulamiento ecuatorial, pues las substancias del ecuador afluyen a los polos.- Esto explica únicamente la división del citoplasma.-

Lillie, para explicar la figura miótica, admite que cuando salen los catiónes, los primeros que atraviezan la membrana son los adyacentes a ella.- Estas capas se vuelven menos negativas que las partes interiores donde existe una acumulación de aniones cargados negativamente.- Semejante fenómeno, tiene lugar únicamente en los polos.- Se crearían así los polos eléctricamente negativos.- Los asters estarían situados entre ellos y con un campo de fuerza en el cual los alveolos del citoplasma se orientarían hasta dibujar un huso.-

Quizás los experimentos de estimulación enzimica, que relatamos, anteriormente, puedan darnos los elementos para un esquema de la partenogénesis artificial.- En realidad en todo proceso de desarrollo ovular se observa un aumento de los materiales constituyentes de la célula, paralelo con una mayor actividad de las acciones

diastásicas ya que éstas son los resortes del metabolismo celular.-

Cabe entónces preguntarse, por qué los factores que provocan la partenogénesis, excitan la actividad enzimática?

En las páginas precedentes hemos visto que muchas son las sustancias capaces de dar un impulso particular a los fermentos solubles, desde los iones hasta los lípidos como el protagón.-

Hemos dicho también, que probablemente, este fenómeno obedecía a una estabilización de orden coloidal.-

que tendría pues de extraño, que cada vez que se estimule un óvulo ocurran algunas de estas activaciones diastásicas.-

Podríamos admitir que por una sustancia que sería susceptible de variar de caso a caso, las enzimas del protoplasma son estimuladas.-

En estas condiciones, los procesos orgánicos que tienen por campo al citoplasma, adquirirían una intensidad muy grande.- El mismo citoplasma aumentaría de volumen, y de acuerdo con la ley de Boveri (que dice que cuando el citoplasma adquiere un cierto tamaño, con relación al núcleo, se inicia su división), ocurrirían los fenómenos de división.-

Admitiendo con Damianovich que en los procesos diastásicos del citoplasma se produce electricidad, que luego obra a través de la membrana nuclear para dar lugar a la segmentación del núcleo, podríamos avanzar un poco más.- La activación de las diastases del protoplasma, traería como consecuencia un aumento de su potencial eléctrico.- La electricidad actuaría a través de la membrana nuclear para producir la división celular de acuerdo con la teoría de Gallardo.-

Sin embargo, se podría economizar esta última suposición; Bastaría apoyar únicamente en un aumento de la actividad de la diastasa y en la división celular de acuerdo con la ley de Boveri.-

En esta forma, se podría explicar de una manera general, los diversos métodos empleados para producir la partenogénesis y en efecto todos los factores que se usan para este objeto, serían

susceptibles de modificar de una manera directa o indirecta el estado físico de las diastasas hasta colocarlas en un óptimo de actividad, ya sea por una estimulación, resultante de electrolitos o de los mismo lipoides intracelulares o por una substancia orgánica cualquiera.--

---

- BIBLIOGRAFIA -

-----

- J. I. Morgan - The element of Physical Chemistry.-
- J. F. Spencer - An Experimental Course of Physical Chemistry.-
- Findley - Practical Physical Chemistry.-
- F. Bottazzi - Chimica-Fisica.-
- Van't Hoff - Traite de Chimie-Physique.-
- Hernst - Chimie Generale.-
- Achalme - Electronique et Biologie.-
- H. Damjanovich - Estudio Fisico-químico y Bio-químico de las ma-  
terias colorantes artificiales.-
- P. Victoria - La catálisis química.-
- Ivar Bang - Chemie und Biochemie der Lipide.-
- Kraus y Levaditi - Immunitätsforschung.-
- E. Kelle und A. Wassermann.- Handbuch der Pathogen Mi-kroorganismen.
- Langlin - Precis de Biochimie.-
- Ives Dolage et M. Goldsmith - La parthenogenese naturelle et  
experimentale.-
- Maurice Caullery - Les Problemes de la Sexualite.-
- Jacques Loeb - La fecundation chimique.-
- Bertrand et Thomas - Guide pour les manipulation de Chimie-Biolo-  
gique.-
- A. Herden - La fermentation alcoolique.-
- A. Morel - Precis de Technique Chimique a l'usage des laboratoi-  
res medicoux.-
-

CONCLUSIONES: -

I - La catalasa del hígado, es inhibida, por los jabones.- El oleato de sodio actúa negativamente en muy débiles proporciones.

II - El protagón estimula enérgicamente a la catalasa del hígado; 0,00002 mg.de ésta substancia bastan para producir una activación marcada.- Esta activación se produce en el comienzo de la reacción, es decir, durante el período de inducción,- Esto sucede cuando se emplea  $H_2O_2$  concentrada.-

III -Con agua oxigenada diluida, la estimulación es apenas perceptible.-

IV - El protagón actúa mejor en presencia del ión OH que del H.-

V - Probablemente el fenómeno de activación por el protagón se debe a una estabilización de naturaleza coloidal.-

VI - La colestexina en débiles dosis no produce ningún efecto favorable.-

VII - La lecitina comercial (Merck) en pequeñas proporciones no estimula a la catalasa.-

VIII - Los sueros normales y sífilíticos en pequeña cantidad no actúan sobre el fermento estudiado.-

IX - La activación de los fermentos solubles podría suministrar una base para la interpretación del mecanismo de la partenogénesis artificial.-

---

*Marino C. Luciani*  
*Diciembre 30 1951*



un ser, Mar 10/916  
Presentada en la fecha con 58  
paginas



*[Signature]*  
Secretaria

Pase a la Comision examinadora N° 22  
para que se sinta estudiar la presente tesis.

*[Signature]*  
Decano

*[Signature]*  
Secretario

Buenos-Aires, Abril 29/916.

Los miembros de la Comision  
n° 22 que suscriben han estudiado  
la presente tesis y tambien aceptarla.

~~Enuro Luctore~~ *[Signature]*  
Victor J. Beronola *[Signature]*  
N. Damiano *[Signature]*  
*[Signature]* *[Signature]*  
*[Signature]* *[Signature]*

Mart 9 5/2 per