

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE CORTICOSTERONA A SERES HUMANOS *

FRANCISCO GÓMEZ MONT. Académico de número y DAVID BERLINER

La corticosterona o Δ^4 pregneno-11 B, 21-diol-3,20 diona- (figura 1), llamada también compuesto H por Reichstein y Compuesto B por Kendall, fue aislada por estos investigadores simultáneamente en 1937 a partir de

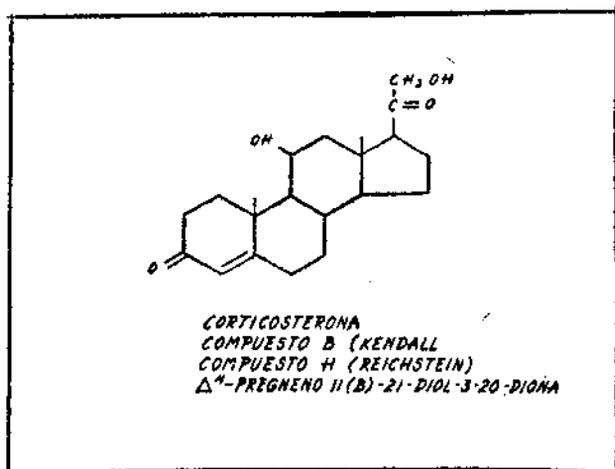


Figura 1

extractos de corteza suprarrenal de buey.¹ Los estudios experimentales realizados con ella han demostrado que posee del 6 al 10% de la actividad mineralocorticoide de la 11-desoxicorticosterona y la mitad de la acción glucocorticoide de la cortisona.²

Después de la primera síntesis de este compuesto en 1940, se realizaron dos estudios experimentales en seres humanos. Thorn³ administró a un

* Trabajo de ingreso leído el 2 de septiembre de 1953. Los estudios se llevaron a cabo en el Hospital de Enfermedades de la Nutrición, en parte con ayuda económica de Damon Runyon Memorial Fund for Cancer Research, Inc.

sujeto con insuficiencia suprarrenal 85 miligramos en una sola dosis y observó efecto evidente sobre el metabolismo de los electrolitos y de los hidratos de carbono. Loeb⁴ utilizó en otro sujeto con insuficiencia suprarrenal 15 miligramos diarios durante seis días sin observar cambio importante. La producción de esta hormona fue suspendida y sólo hasta 1950 se comprobó que la incubación⁵ o la perfusión⁶ de corteza suprarrenal con esteroides oxidaba al carbono 11 de la molécula. La transformación de 11-desoxicorticosterona a corticosterona es una reacción habitual de estos procesos y por este medio se han podido obtener cantidades importantes del producto para su ensayo clínico. Conn⁷⁻⁸ y West⁹ han estudiado los efectos metabólicos de dicho esteroide por vía parenteral y oral en sujetos normales y en individuos con insuficiencia suprarrenal. Wilkins¹⁰ ha estudiado la actividad depresora en la hiperfunción cortical por hiperplasia de la glándula y Wolfson¹¹⁻¹² ha estudiado algunos aspectos químicos de los metabolitos urinarios de la corticosterona.

En los Laboratorios de Investigación de Syntex, S. A., fue posible obtener corticosterona por perfusión de corteza suprarrenal de buey con desoxicorticosterona. Por cortesía del doctor Alejandro Zaffaroni se nos proporcionó un gramo de esta sustancia para su ensayo clínico. Gracias a la creación de un laboratorio de Cromatografía en Papel en el Laboratorio de Hormonas del Hospital de Enfermedades de la Nutrición, se decidió hacer simultáneamente el estudio de los metabolitos urinarios de la corticosterona, ya que no hay publicación en la literatura a este respecto.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio en un sujeto normal. Expediente 12,583. Se escogió un individuo del sexo masculino, de 21 años de edad, con buen estado de nutrición y que presentaba un estenosis incompleta del esófago por ingestión de ácido sulfúrico. Fue internado en el Cubículo Metabólico del Hospital de Enfermedades de la Nutrición y tenido en estudio durante 13 días. El primer período duró tres días y sirvió de testigo. Durante el segundo período de dos días de duración, se administraron por vía intramuscular 50 miligramos cada 12 horas de una suspensión microcristalina de corticosterona que contenía 25 miligramos por centímetro cúbico. En el tercer período, que duró tres días, se aplicaron 100 miligramos cada 12 horas, y en el cuarto período, de cinco días de duración, no recibió tratamiento. Durante todo el estudio, el enfermo ingirió una dieta líquida, igual todos los días. No se hicieron dosificaciones de electrolitos en alimentos ni en

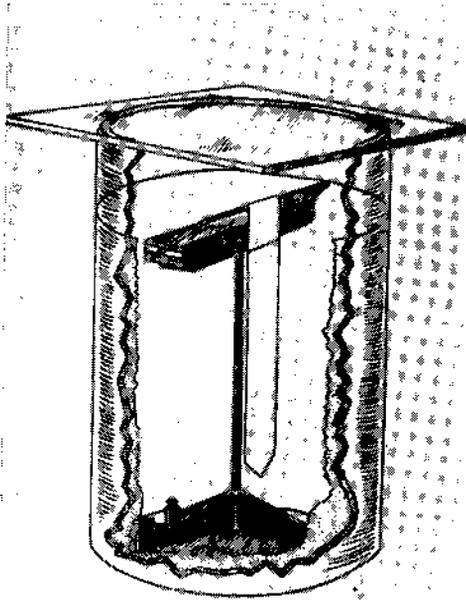


Figura 2

SECCIONES TRANSVERSALES DE POLIESTER CON FIBRAS COMPRESIVAS ANISOTROPAS
 EN FUNCIÓN DE LA ALFACACETILACETONAMIDA, CONDICIONES Y CANTIDAD
 EN LA INDUSTRIA TEXTIL.

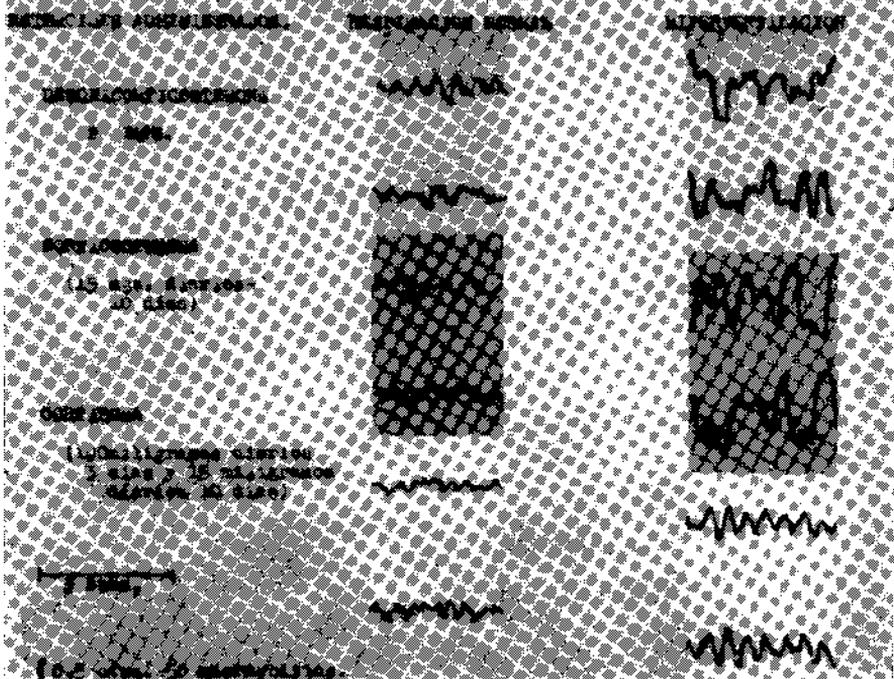


Figura 3

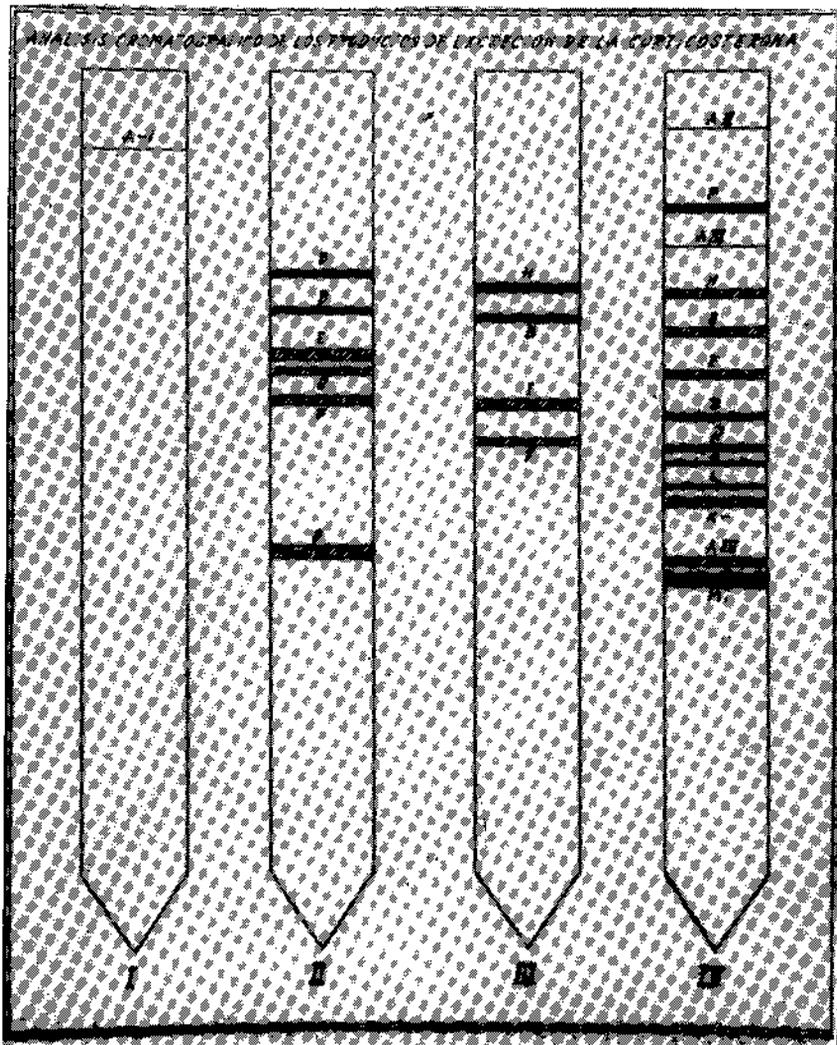


Figura 4

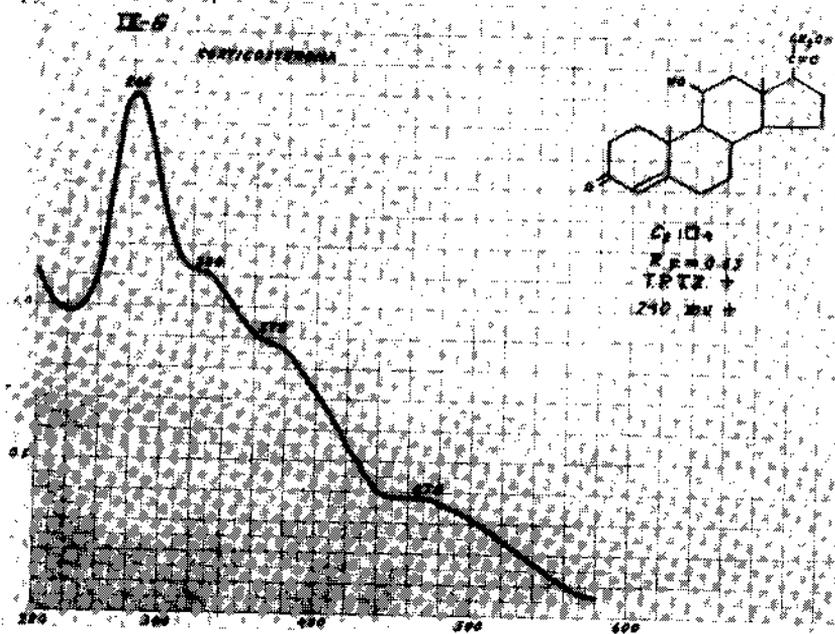


Figura 5

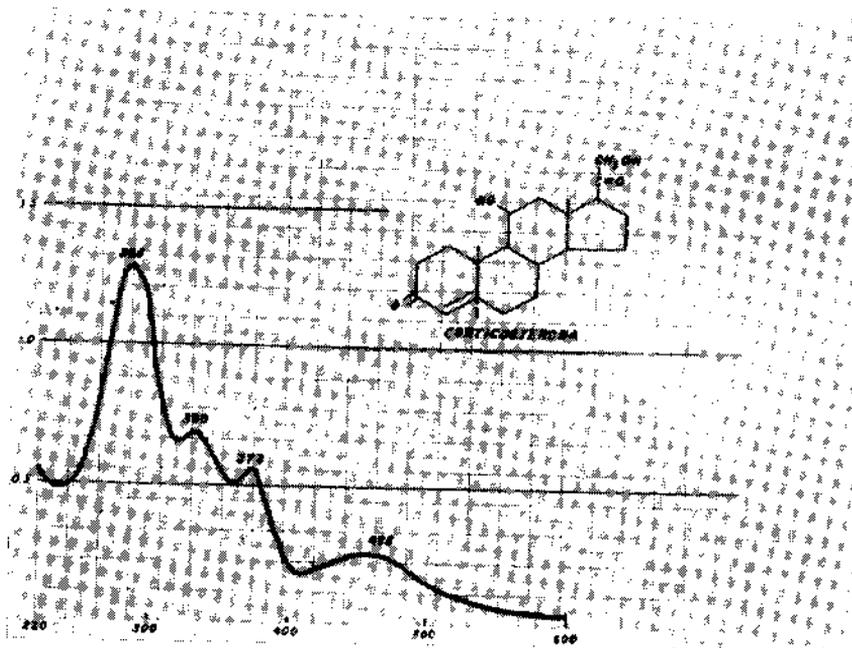


Figura 6

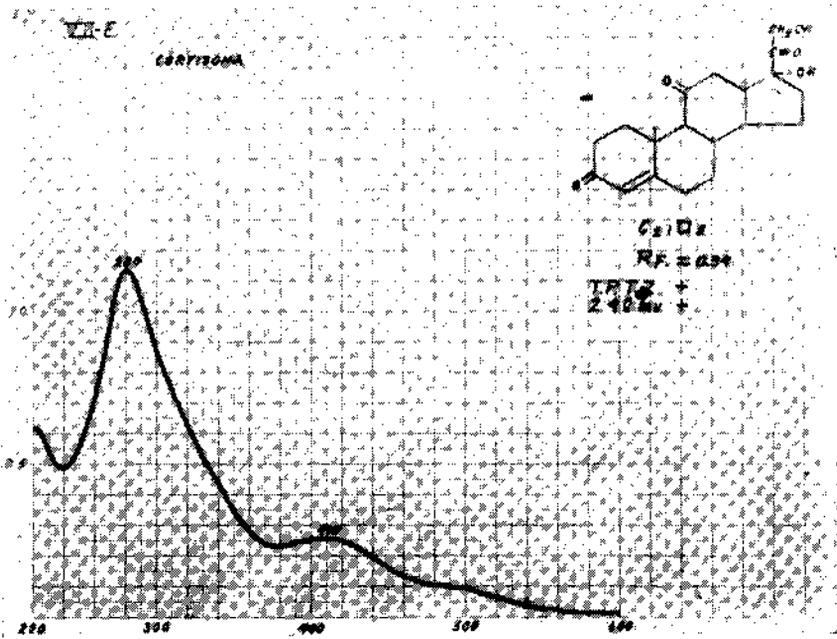


Figura 7

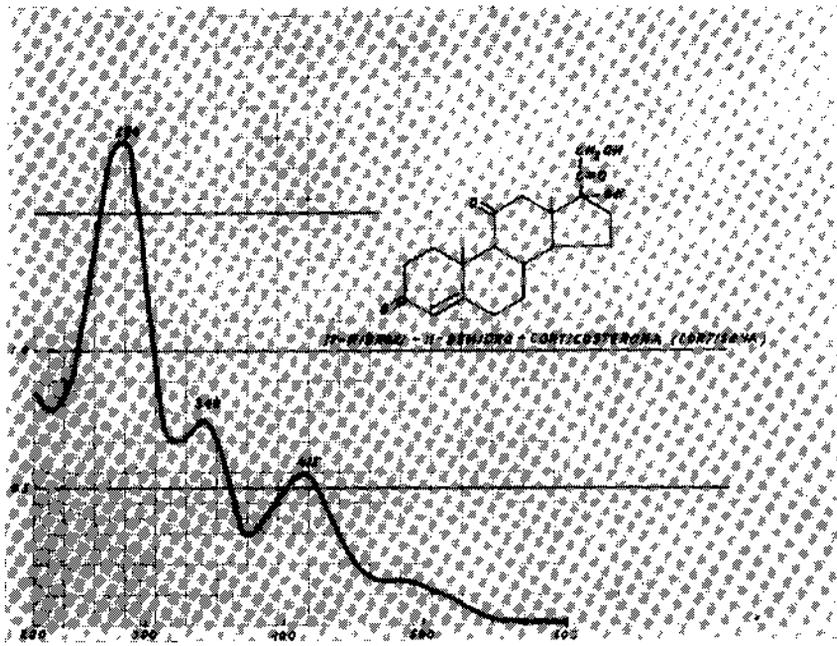
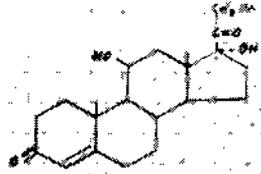


Figura 8

ZX-N

17-HIDROXICORTICOSTERONA

"F"



CaCl₂

R_F = 0.26

T.P.T.Z. +
290 mμ +

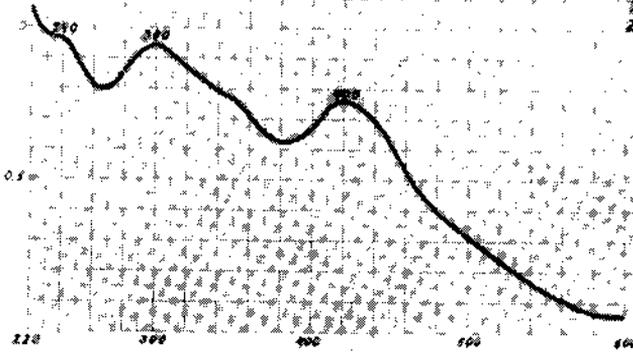
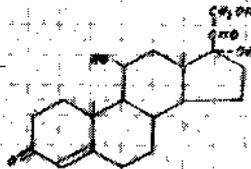


Figura 8 bis



17-HIDROXICORTICOSTERONA

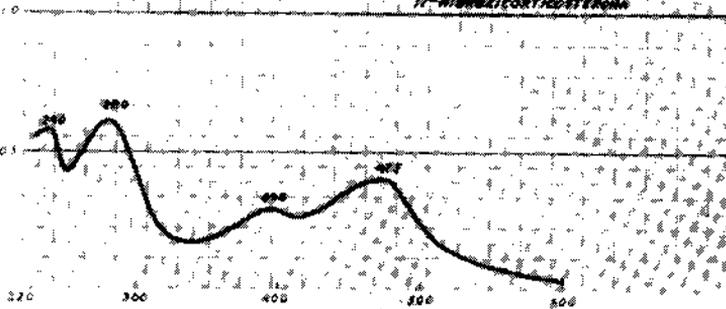


Figura 9

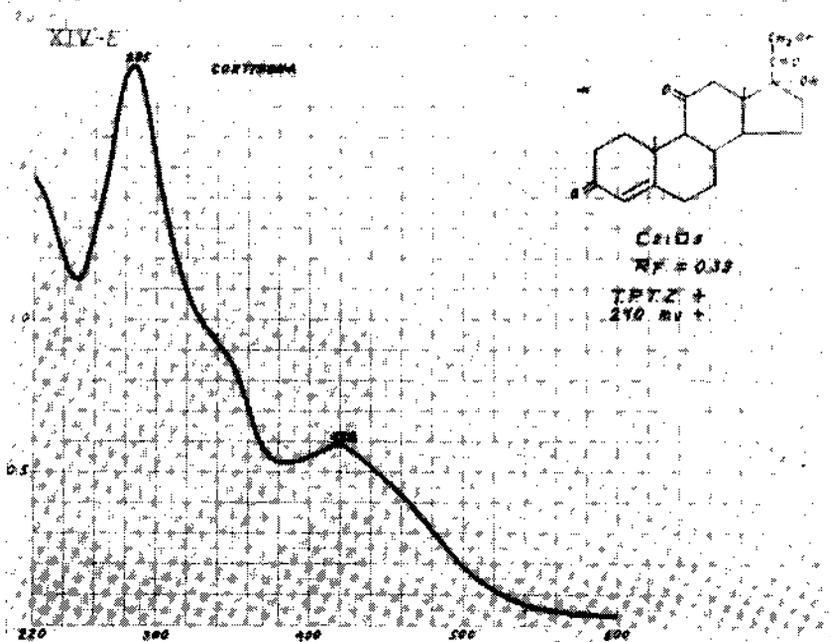


Figura 10

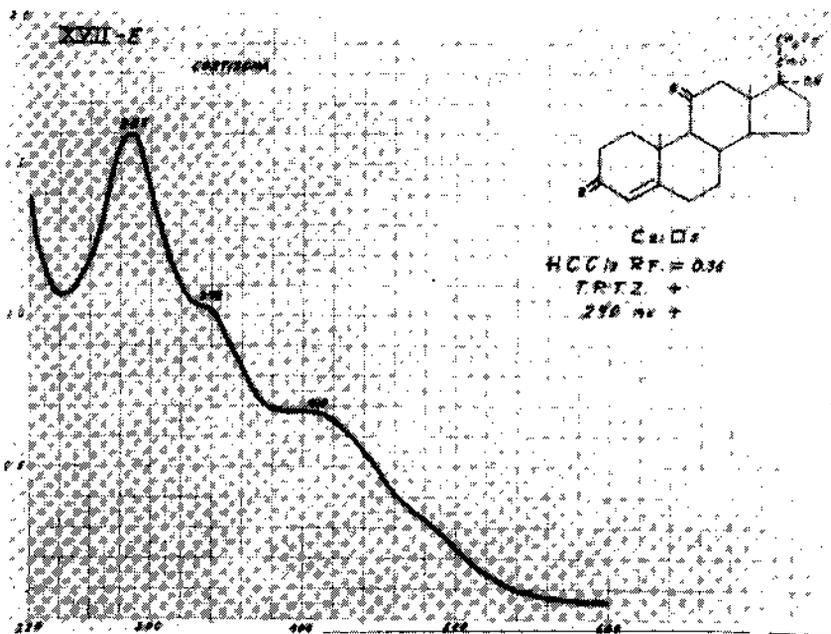


Figura 11

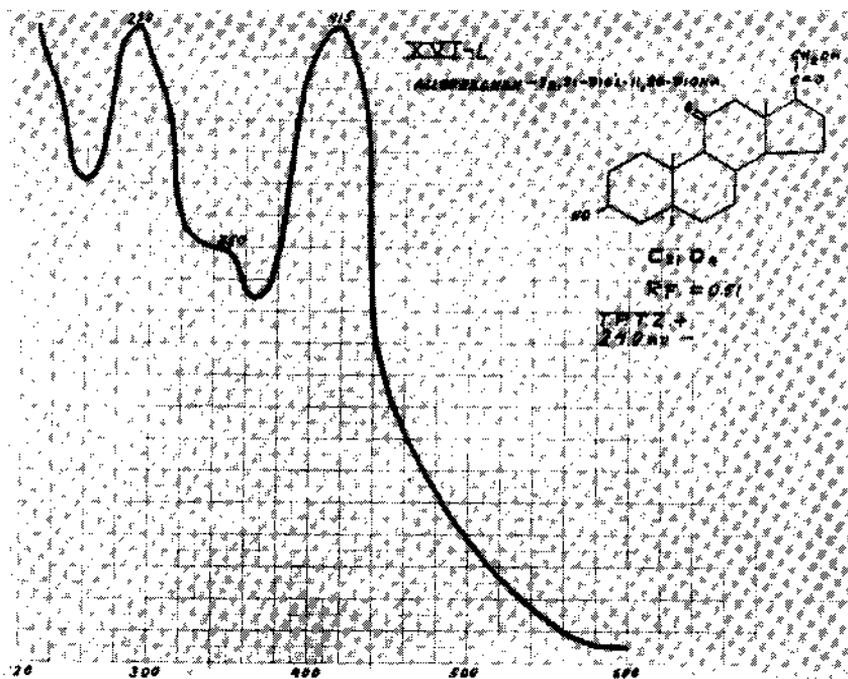


Figura 12

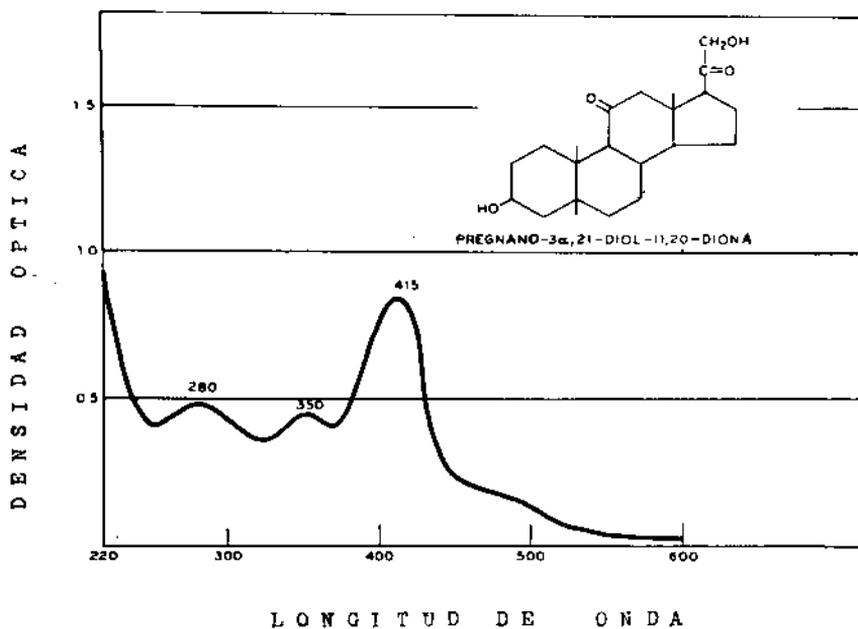


Figura 13

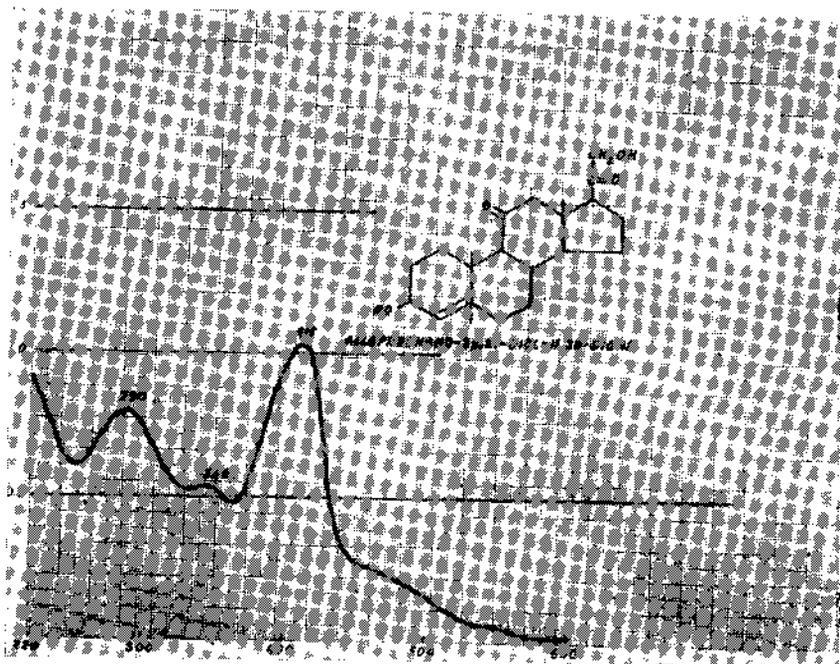
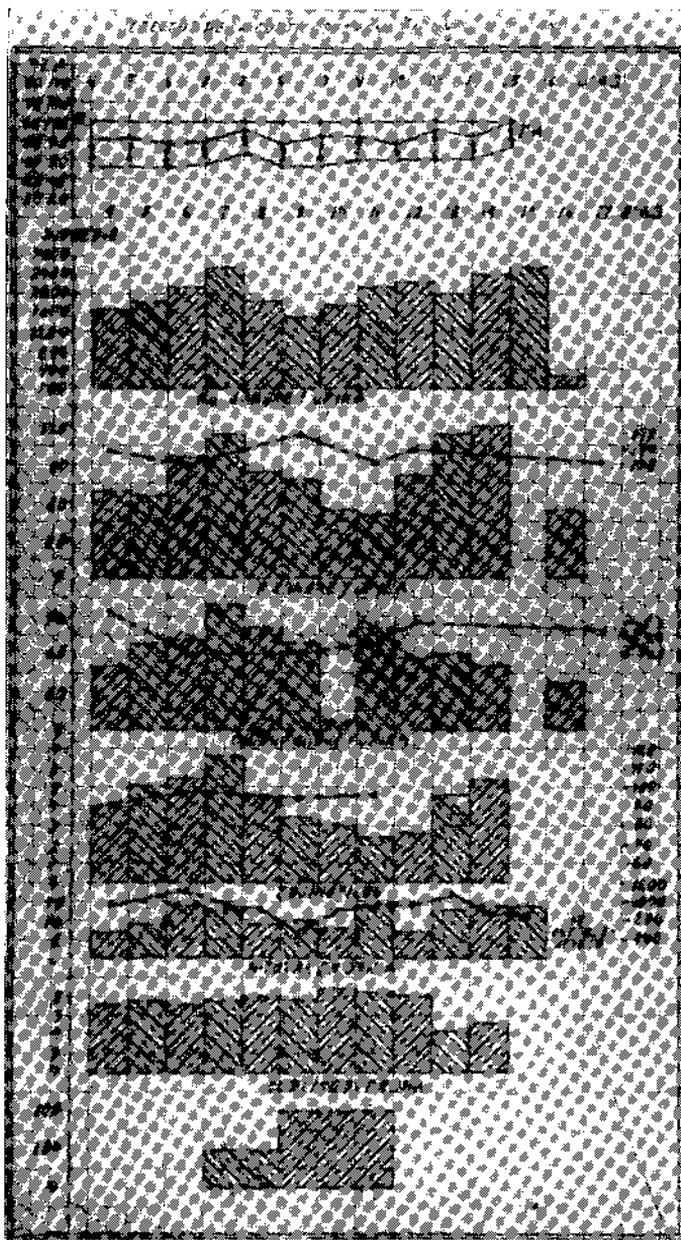
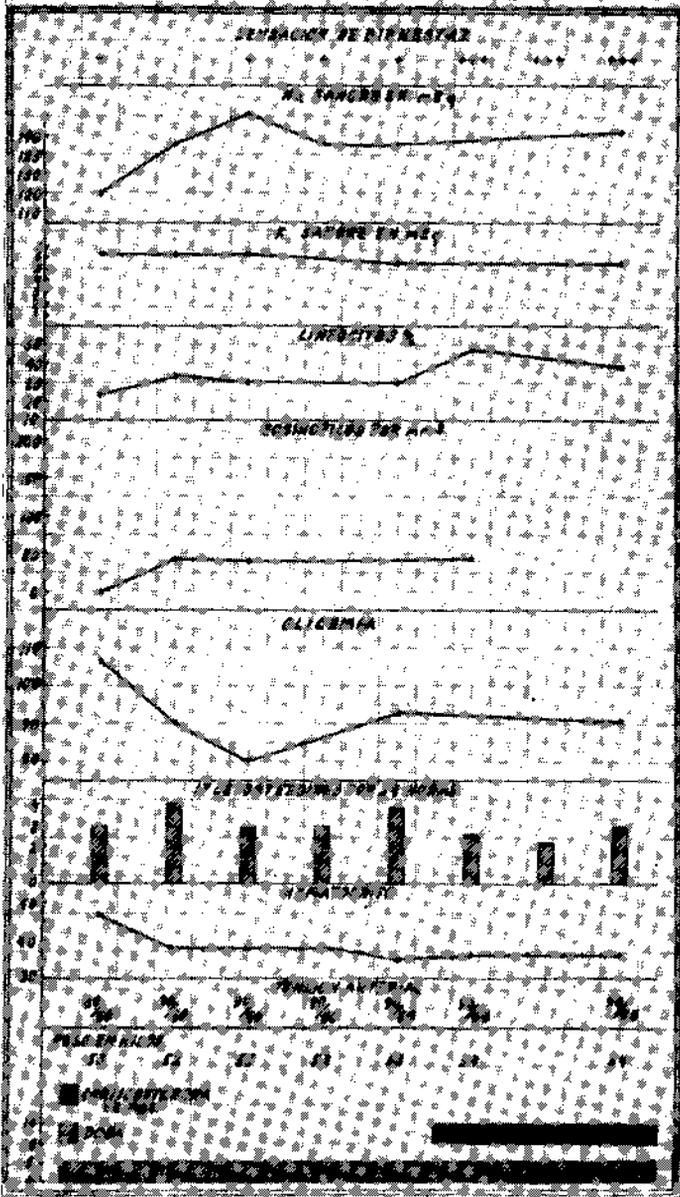


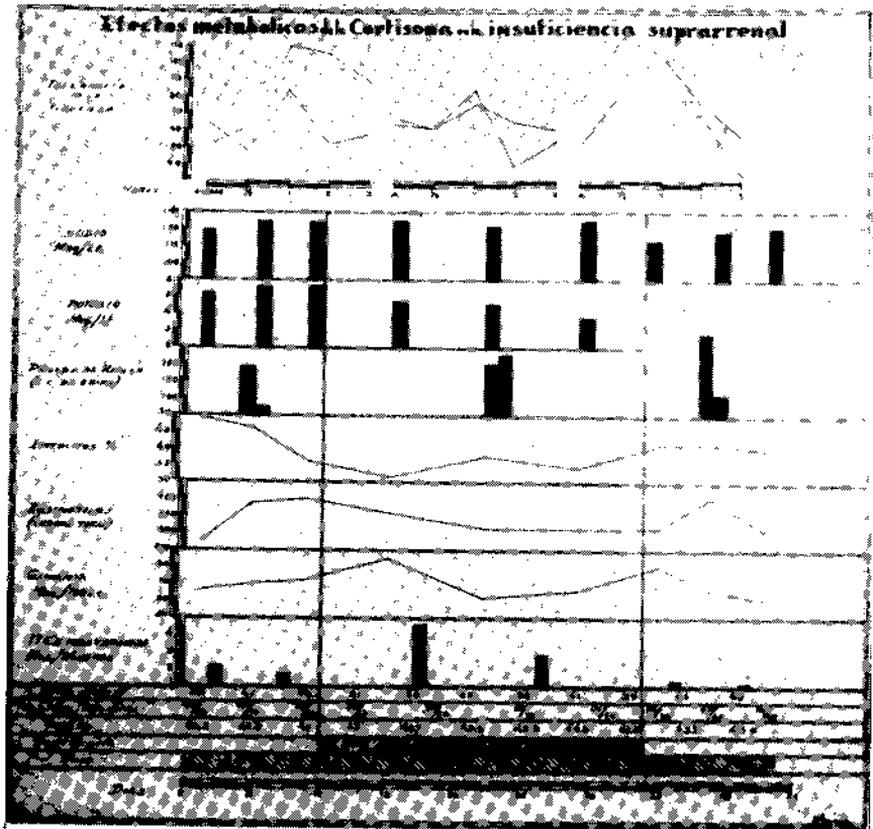
Figura 14



Gráfica Nº 1



Gráfica Nº 2



Gráfica N° 3

materia fecal, por lo que estos estudios no pueden ser considerados como de "balance metabólico".

Durante el estudio se hicieron determinaciones diarias del peso, tensión arterial, pulso y diuresis, y se investigó la presencia de edemas y la sensación de bienestar. La orina fue colectada sin preservativo por períodos de 24 horas y se determinó en ella el contenido en cloro, sodio, potasio y nitrógeno total no proteico. Las porciones de orina no utilizadas en estos estudios fueron hidrolizadas a un pH de 4.5 con 75,000 unidades de glucoronidasa obtenida en nuestro laboratorio a partir de bazo de buey según técnica de Fishman.¹³

La hidrólisis enzimática de las orinas se prolongó durante 48 horas a 25° C. Al final de este período, las orinas fueron extraídas por agitación con cloroformo cuatro veces. El solvente fue evaporado a baja presión y a temperatura no mayor de 40° C. Los extractos secos fueron sometidos a separación cromatográfica en papel siguiendo la técnica de Zaffaroni¹⁴ y aplicada a nuestro laboratorio según ha sido descrito.¹⁵ Esta separación consistió en aplicar el residuo de la orina en una tira de papel filtro Whatman N° 1 de cinco centímetros de ancho por 35 centímetros de longitud. El papel fue previamente embebido en el solvente fijo del sistema, en este caso formamida. La tira fué llevada después a una cámara cromatográfica (figura 2), que contenía en el recipiente superior el solvente móvil, hexano, el que se dejó avanzar hasta el extremo inferior del papel y gotear durante dos horas, con lo que se logró arrastrar las sustancias poco polares, y permanecieron en la porción superior del papel las sustancias más polares, particularmente los esteroides corticales y los de la serie de la corticosterona. Los papeles fueron después llevados a una cámara que contenía cloroformo como solvente móvil y se le dejó avanzar hasta el frente. De esta manera se logró descender a los esteroides. Estos avanzaron tanto más cuanto menos oxígenos tenían en su molécula, de tal manera que a juzgar por la distancia recorrida pueden clasificarse tentativamente en compuestos de dos, tres, cuatro o cinco oxígenos.

Los esteroides fueron localizados cortando una delgada tira a lo largo del papel y sumergiéndola en una solución alcalina de cloruro de trifeníl tetrazolio, substancia que al ser reducida toma un color rojo. El sitio en donde este color apareció indicó la localización de los esteroides y además, implicó la presencia de una cadena lateral alfacetol. Esta estructura indica, además, que el esteroide contiene 21 átomos de carbono y corresponde, por tanto, a elementos de la serie del pregnano o de su isómetro, el alopregnano.

Después de localizar las zonas que contienen los esteroides, la porción

correspondiente del papel fue eluída en metanol y alícuotas de esta solución fueron utilizados para determinar la absorción de luz ultravioleta entre 220 y 260 milimicrones. Los compuestos que poseen una doble ligadura conjugada entre el carbón 4 y el 5 del núcleo esteroide y una cetona en el carbón 3, absorben la luz ultravioleta en 240 milimicrones y esta absorción es directamente proporcional a la concentración e inversamente proporcional al peso molecular. Por estas características, este medio puede ser utilizado para la cuenta de las sustancias esteroides.

Otra alícuota de la solución metabólica fue evaporada y el extracto seco disuelto en ácido sulfúrico concentrado y dejado en la oscuridad durante dos horas. Al final de este período se determinó la absorción de luz entre 220 y 600 milimicrones en un espectrofotómetro Beckman. La densidad óptica en cada punto del espectro fue utilizada para trazar una gráfica, con lo que se obtuvieron las curvas del espectro de absorción. Estas curvas, cuyo valor para la identificación de esteroides de molécula compleja ha sido ampliamente demostrado, fue utilizada para identificar los esteroides comparándola contra cincuenta curvas de sustancias puras.

Estudios en sujetos con insuficiencia suprarrenal. Expediente N° 472. Un sujeto con insuficiencia de la glándula suprarrenal por tuberculosis, fue internado en crisis addisoniana en el Cubículo Metabólico del Hospital de Enfermedades de la Nutrición y tratado con acetato de 11-desoxicorticosterona, cloruro de sodio, extracto total de corteza suprarrenal y antibióticos. Posteriormente fue tenido en equilibrio con 2.5 miligramos de acetato de 11-desoxicorticosterona diariamente durante 30 días. Al cabo de este período se le agregaron 15 miligramos de corticosterona por vía intramuscular durante 12 días. Para comparar los resultados se hizo un tratamiento semejante a una enferma con insuficiencia suprarrenal crónica de origen tuberculoso, expediente 7446, sólo que, en vez de corticosterona, se le agregó cortisona a la dosis de 12.5 miligramos diarios por vía intramuscular. Los dos enfermos fueron sometidos al mismo tipo de estudios que en el primer caso excepto las dosificaciones de electrolitos en orina y la separación cromatográfica de esteroides urinarios. Al enfermo tratado con corticosterona se le hicieron electroencefalogramas antes de iniciar la administración de esta hormona, el décimo día del tratamiento y dos meses después, al estar recibiendo 100 miligramos de cortisona.

RESULTADOS

En la gráfica I se muestran los resultados de este estudio en el sujeto normal. Como puede notarse, no hubo variación importante en el peso, tensión arterial, diuresis, concentración en sangre de sodio, cloro, potasio, eosinófilos circulantes y excreción de 17 cetoesteroides.

Los estudios en orina demostraron un descenso en la excreción de sodio y cloro. La baja cifra de potasio observada el séptimo día no puede atribuirse a acción hormonal y no fue evidente ninguna acción de la corticosterona sobre la eliminación urinaria de este ion. Se apreció un ligera elevación en la excreción de nitrógeno total no proteico cuando se administraron 200 miligramos diarios de la hormona.

En la Gráfica II se muestran los resultados del estudio en el sujeto con insuficiencia suprarrenal crónica, quien recibió corticosterona. A excepción de una gran mejoría en el estado general, no hubo cambios importantes en los estudios de laboratorio. Esto es semejante a lo que se observó en el caso de la enferma que recibió cortisona. En esta enferma (Gráfica III) sólo hubo ligero descenso del potasio del plasma y aumento en la excreción de 17 cetoesteroides urinarios; los demás elementos del estudio no variaron a pesar de haberse observado una gran mejoría del estado general.

En la figura 3 se muestran los cambios electroencefalográficos obtenidos con la aplicación de corticosterona. Puede notarse que, a los diez días de tratamiento, no había ningún cambio electroencefalográfico con indicios de mejoría, sino que, al contrario, la amplitud de las ondas tendió a aumentar y la frecuencia a disminuir, siendo esto particularmente notable en la hiperventilación. Por el contrario, después de la administración de cortisona se observó una franca tendencia a la normalización.

ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO

Se aislaron 15 esteroides durante los 13 días del estudio. Tres zonas no pudieron ser estudiadas espectrofotométricamente por estar en muy escasa cantidad —Compuestos A-1. Otros tres fueron estudiados en cuanto a la existencia de doble ligadura conjugada —Compuestos A-II-III y IV. A los demás esteroides se les analizaron espectrofotométricamente los cromógenos de ácido sulfúrico. (Tabla I.)

En la figura 4 se muestran los cromatogramas obtenidos que repre-

sentan las velocidades de los esteroides localizados. El cromatograma I corresponde a los esteroides eliminados antes de iniciar la administración de corticosterona. Como se ha dicho, no fueron identificados por haber aparecido en muy poca cantidad, pero, por su velocidad cromatográfica y su reacción al trifenil tetrazolio, podrían corresponder a la cortisona, hidrocortisona y a sus derivados normalmente eliminados por la orina.¹⁶⁻¹⁷

En los cromatogramas II y III se muestran las zonas localizadas durante el período de administración del Compuesto B de Kendall. El II corresponde al período de administración de 100 miligramos y el III al de 200 miligramos diarios. Las características cromatográficas de las zonas G y E demuestran que estos compuestos corresponden a la corticosterona y a la cortisona respectivamente (figuras 5 y 6).

Las sustancias B y D (figura 4), que por su movilidad corresponden a compuestos de cuatro oxígenos, no tienen doble ligadura conjugada y, por lo tanto, indican que la corticosterona ha sido hidrogenada en el carbón 3 y en el carbón 4 y 5, rompiendo la doble ligadura que une a estos carbonos. Este tipo de derivados recibe el nombre trivial de tetrahidos y son las formas reducidas de los esteroides naturales que habitualmente se encuentran en la orina. Pueden corresponder, en este caso, a derivados de la corticosterona o de su 11 dehidro, el llamado Compuesto A. de Kendall. No pudieron ser identificados porque sólo se poseen curvas tipo de 3 de las ocho eventualidades posibles.

Los esteroides C y F corresponden a compuestos con doble ligadura conjugada, pero con polaridad superior a la de la corticosterona, aunque inferior a la de la cortisona, como puede observarse en el cromatograma. Su naturaleza no es conocida, pero podría corresponder a compuestos con cinco oxígenos.

En el tercer cromatograma se aislaron cuatro esteroides. Dos de ellos han sido ya previamente descritos en el período anterior (Esteroides B y F). El esteroide H correspondería a un compuesto sin doble ligadura conjugada, probablemente un tetrahidro de la corticosterona o de la 11-dehidrocorticosterona, y el I a un compuesto no saturado de cinco oxígenos, que no fue identificado.

El cuarto cromatograma muestra los esteroides encontrados en la orina de los cinco días que siguieron a la suspensión de la corticosterona. De las 13 sustancias encontradas, tres de ellas fueron muy pobres, sin doble ligadura conjugada y corresponden probablemente a derivados reducidos de esteroides de cinco oxígenos, probablemente los tetrahidos E y F, cuya existencia ha sido ya demostrada.¹⁸ Sus cromógenos fueron estudiados espectrofotométricamente en dos de ellos y sólo uno, el P, fue obtenido

en suficiente cantidad para obtener una curva de absorción que no fue identificada.

El esteroide N puede corresponder por sus características cromatográficas al Compuesto F de Kendall o hidrocortisona, aunque la curva en sulfúrico presenta algunas variantes.

Los dos esteroides siguientes, encontrados en los dos últimos días del estudio, presentan datos espectrofotométricos y cromatográficos que permiten asociarlos a la cortisona (figuras 9-10 y 11).

Los otros esteroides encontrados en este período fueron el B (figura 4), cuya naturaleza ya fue discutida previamente en los cromatogramas II y III. El compuesto Ñ, no saturado, de polaridad inferior a la de la cortisona y superior a la de un compuesto con cuatro oxígenos, no identificado. El J, no identificado. El L corresponde por sus características cromatográficas a un esteroide sin doble ligadura en el anillo A y con polaridad de compuesto de cuatro oxígenos. La curva espectrofotométrica fue idéntica a la del alopregnano 3 B 21-diol-11-20-diona o del isómero: pregnano-3-a-21 diol-11-20-diona. La poca cantidad de esteroide encontrada no permitió hacer más estudios para definir el tipo de isomería. Corresponde por tanto a uno de los tetrahedros del compuesto A de Kendall (figuras 12-13 y 14).

Los esteroides A-IV- y K (figura 4) corresponden a compuestos con doble ligadura conjugada y con cuatro oxígenos. El esteroide M podría corresponder a un esteroide saturado de tres oxígenos.

Todos los esteroides analizados poseen una cadena lateral alfaacetólica y un núcleo de 21 carbonos, ya que dieron reacción con el trifenil-tetrazolio.

DISCUSIÓN

1. *Actividad mineralo-corticoide.* Esta actividad de la corticosterona, evidenciada experimentalmente, ha sido demostrada en humanos por nuestro estudio y por los trabajos de Thorn,⁸ Conn⁷⁻⁸ y West.⁹ La ausencia de cambios en la excreción de potasio observada por nosotros no es una negativa a esta propiedad ya que tampoco la presentó uno de los sujetos estudiados por Conn en el que se usaron dosis semejantes a las nuestras y sí fue clara cuando este autor y West usaron la hormona en enfermos con insuficiencia suprarrenal crónica o con dosis muy superior por vía intravenosa. Esta actividad es menos intensa cuando se administra la corticosterona por vía oral y no es tan acentuada como la de la 11-desoxicorticosterona.

2. *Acción glucocorticoide.* Quizá el aumento de nitrógeno urinario observado por nosotros en el sujeto normal nos permite afirmar la existencia de esta actividad en la corticosterona. Este efecto ha sido comunicado también por Conn⁷⁻⁸ y por West⁹ es más notable cuando la hormona se da por vía oral para el primer autor y por vía intravenosa para el segundo. El efecto fue evidente cuando administramos 200 miligramos diarios del compuesto, lo que indica que su actividad es inferior a la de la cortisona.¹⁸ Conn⁷⁻⁸ ha observado, además, que la corticosterona disminuye la tolerancia a la glucosa y aumenta la tolerancia a la insulina, hechos que para West no son evidentes.

Los sujetos con insuficiencia suprarrenal presentaron mejoría en el electroencefalograma cuando recibieron 25 miligramos diarios de corticosterona en el estudio de Conn. La falta de respuesta favorable en nuestro enfermo no es concordante con esto, pero puede ser explicado por lo corto del tratamiento y por la poca cantidad administrada.

En los enfermos addisonianos, esta hormona produce el efecto de mejoría subjetiva tan característico de la cortisona. Este efecto fue evidente en nuestro enfermo. Por todos estos datos se puede concluir que la corticosterona es un esteroide con actividad mineralocorticoide inferior a la de la 11-desoxicorticosterona y con actividad glucocorticoide inferior a la de la cortisona. Es útil en enfermos con insuficiencia suprarrenal ya que es capaz de dar la sensación de bienestar y se ha observado por otros autores que se puede normalizar a sujetos en crisis addisoniana y modificar el electroencefalograma cuando se usan dosis suficientes. Es activa por vía oral y no requiere la administración simultánea de 11-desoxicorticosterona. Es, por lo tanto, el medicamento ideal en el tratamiento de la insuficiencia suprarrenal crónica. No posee propiedades antirreumáticas o antiinflamatorias.⁸

3. *Acción sobre los eosinófilos circulantes.* No observamos ninguna variación importante en estos elementos figurados de la sangre, hecho también comunicado por Conn.⁷⁻⁸
4. *Excreción de 17 cetoesteroides urinarios.* Del Greco¹⁹ encontró que la excreción de 17 cetoesteroides en animales aumentaba cuando se administraban corticoides oxidados en el carbón 17, como la cortisona y la hidrocortisona, mientras que este aumento no se observa cuando se administran corticoides sin este tipo de oxidación, como es el caso de la cortisona. Se ha descrito en seres humanos aumento en la excreción de este tipo de esteroides después de la administración de corticos-

terona, sólo cuando la vía empleada es la oral,⁸ mientras que por vía parenteral hay disminución en la excreción de estos compuestos en sus formas oxidadas en el carbón 11.⁹ Nuestro estudio está de acuerdo con estos datos experimentales y clínicos.

Se ha mencionado que la corticosterona aumenta la excreción del llamado Cromógeno de Pettenkoffer, substancia que había sido asimilada a la dehidro epandrosterona, un 17 cetoesteroide.¹¹ Recientemente se ha demostrado¹² que las substancias responsables de esta reacción son esteroides muy polares de naturaleza desconocida que aparecen como consecuencia de la administración de corticosterona o de corticotrofina. La complejidad de estos metabolitos será discutida más adelante.

5. *Efectos sobre la corteza suprarrenal.* Wilkins ha demostrado¹⁰ que la corticosterona es capaz de suprimir la hiperfunción de la corteza suprarrenal en casos de hiperplasia, aunque su actividad es menor que la de la cortisona o de la hidrocortisona. Esta acción depresora es confirmada por la disminución de la excreción de 11-oxi-17 cetoesteroides cuando se administra a sujetos normales.⁹ Nuestro estudio cromatográfico muestra que la administración de corticosterona suprime la excreción de los compuestos corticales del período de control secretados por la corteza suprarrenal del sujeto estudiado (figura 4). Sin embargo, es posible demostrar la existencia, durante este período de administración hormonal, de esteroides con cinco oxígenos que, según el concepto actual, no pueden ser biosintetizados en el organismo a partir de la corticosterona y por lo tanto deben de provenir de la corteza suprarrenal del sujeto estudiado. Esta supresión se hace más evidente hacia el período de administración de 200 miligramos y resalta más al comparar este período con el siguiente en el que se observa que, al suspender la administración de corticosterona aparecen en forma abrupta gran cantidad de esteroides muy polares, tales como la cortisona, quizá la hidrocortisona y algunos de sus derivados hidrogenados. Estos datos indican que la corticosterona es capaz de inhibir en grado importante, aunque no completamente, a la corteza suprarrenal normal a dosis de 200 miligramos diarios.
6. *Metabolitos urinarios de la corticosterona.* La identificación de algunos esteroides con cuatro oxígenos durante el período de administración de corticosterona, nos permitió aislar a esta hormona, hallazgo no comunicado previamente en la literatura, y a una serie de sus metabolitos con evidencia de reducción en el anillo A. Este tipo de modi-

ficación en la estructura del núcleo esteroide, es el camino habitual del metabolismo de estas sustancias y ha sido demostrado que existe en el tejido normal, particularmente en el hígado, bazo, riñón y músculo para la cortisona, hidrocortisona, 17-hidroxi 11-desoxicorticosterona, DOC y progesterona.²⁰ Aunque como consecuencia de este metabolismo pueden formarse los derivados isoméricos hidrogenados en el anillo A del núcleo esteroide: el pregnano o el alopregnano, con diferente configuración estérica en el hidroxilo del carbón 3, ya sea en posición alfa o beta, los esteroides habitualmente aislados en la orina pertenecen al grupo de los pregnanos con isomería alfa y excepcionalmente se ha mencionado uno, el alopregnano 3 beta 20 ona, como derivado de las hormonas naturales del embarazo.²⁴ Los distintos tetrahidros presentan curvas de absorción de los cromógenos del ácido sulfúrico muy semejantes, de ahí que por este solo medio no nos sea posible establecer la estructura química con precisión. La poca cantidad de esteroide encontrada no nos permitió precisar el tipo de isomería en el compuesto L de nuestra serie por otros medios. Sin embargo, dado el habitual hallazgo de elementos de la serie del pregnano 3 alfa en la orina, creemos que el compuesto aislado es el tetrahidro del compuesto A.

Es importante hacer notar la oxidación sufrida en el carbón 11 por este esteroide, hecho no comunicado previamente con compuestos de la serie de la corticosterona y que indica que en el organismo existe una interconversión entre el compuesto B y el A de Kendall, semejante a la que se ha descrito para la cortisona y el compuesto F de la misma serie.²²⁻²³

El hallazgo de otros compuestos durante la fase posterior a la administración de la corticosterona, particularmente la cortisona, probablemente la hidrocortisona y otros compuestos no identificados plenamente, pero de polaridad semejante a la de esteroides de cinco oxígenos, no necesita mayor discusión ya que indudablemente proceden de la corteza suprarrenal del sujeto. Sin embargo, este hecho sugiere que esta glándula secretó gran cantidad de esteroides en esta fase, si se compara con los esteroides obtenidos durante el primer período del estudio. Por otro lado, el hallazgo de un esteroide de muy poca polaridad, posiblemente de tres oxígenos, nos hace pensar en la existencia de algún precursor de este tipo, como la 11-desoxicorticosterona.

CONCLUSIONES

Los estudios realizados en un sujeto sano y en un individuo con insuficiencia suprarrenal demuestran que la corticosterona:

1. Es activa desde el punto de vista mineralo y glucocorticoide.
2. No hace bajar el número de los eosinófilos circulantes ni aumenta la excreción de 17 cetosteroides urinarios.
3. Inhibe en forma importante a la función cortical cuando se administra a una dosis de 200 miligramos diarios por vía intramuscular.
4. A su paso por el organismo sufre transformaciones varias particularmente la reducción en el anillo A. Sólo uno de estos derivados pudo ser identificado parcialmente y corresponde a un tetrahidro del compuesto A, posiblemente el pregnano 3α 21 diol, 11-20 diona. Es interesante el hallazgo de este compuesto porque indica que el organismo es capaz de oxidar el hidroxilo del carbono 11 de la corticosterona.

Se aislaron otros esteroides de cinco oxígenos, al parecer seguramente procedentes de la corteza suprarrenal del sujeto estudiado. Se identificaron entre éstas a la cortisona y probablemente a la hidrocortisona. Hubo otros compuestos de polaridad semejante a la de corticoides de tres oxígenos que no pudieron ser identificados.

AGRADECIMIENTO

El presente trabajo fue realizado en el Hospital de Enfermedades de la Nutrición aprovechando la creación del Cúbiculo Metabólico destinado a este tipo de investigaciones y que implica la organización de un servicio médico, de laboratorio, de enfermería y de dietética. Los estudios hormonales fueron realizados en el Laboratorio de Hormonas del mismo Hospital incluyendo la partición cromatográfica de esteroides, la que pudo ser realizada gracias a la ayuda y consejo del doctor A. Zaffaroni con fondos de la Damon Runyon Memorial Fund for Cancer Research Inc.

Agradecimiento especial merecen las señoritas técnicas del laboratorio de Hormonas por su empeño y dedicación en la realización de labores tan especializadas y complejas.

TABLA I

ANÁLISIS CROMATOGRAFICO DE ESTEROIDES URINARIOS.
ADMINISTRACIÓN DE CORTICOSTERONA.

Día	Compuesto	R _f	Absorc. 240 mu.	Máximos de la curva de H ₂ SO ₄	Esteroide	Identificación	Cantidad gamas.	Tratamiento Mg.
1	I	0.10	?	—	A-I	C ₂₁ O ₆	—	—
2	II	0.12	?	—	A-I	C ₂₁ O ₆	—	—
3	III	0.12	?	—	A-I	C ₂₁ O ₆	—	—
4	IV V	0.29 0.40	Neg +	305-425 300-345-435	B F	C ₂₁ O ₄ C ₂₁ O ₆	378	100.
5	VI VII VIII IX	0.25 0.34 0.36 0.63	Neg + + +	260-350-440 280-410 280-440 285-330-375-470	D E C G	C ₂₁ O ₄ Cortisona. C ₂₁ O ₆ Corticoesterona	500 298 364.8	100.
6	X XI	0.25 0.46	Neg +	310-440 300-425	H F	C ₂₁ O ₄ C ₂₁ O ₆	177.6	200.
7	XII	0.28	Neg	305-425	B	C ₂₁ O ₄	—	200.
8	XIII	0.40	+	300-350-425	I	C ₂₁ O ₆	354.8	200.
9	XIV XV XVI XVII	0.48 0.48 0.51 0.72	Neg + Neg Neg	260-315-440 315-420 290-350-420 310-410	J K L M	C ₂₁ O ₄ C ₂₁ O ₆ C ₂₁ O ₄ -Tetrahydro C ₂₁ O ₆	— — — —	— — — —
10	XVIII XIX XX XXI	0.12 0.20 0.26 0.44	Neg Neg 230 Neg	? ? 240-300-350-400 240-295-340-420-500	A-II A-III N N	C ₂₁ O ₆ C ₂₁ O ₆ Hidro-cortisona C ₂₁ O ₄	— — 283 325	— — — —
11	XXII XXIII	0.42 0.62	+ +	305-420 310-420	B O	C ₂₁ O ₄ C ₂₁ O ₄	61.7	—
12	XXIV XXV	0.33 0.59	+ Neg	285-420 ?	E A-IV	Cortisona C ₂₁ O ₄	305 116	—
13	XXVI XXVII	0.17 0.36	+ 250	230-300-320-420 285-340-410	P E	C ₂₁ O ₆ C ₂₁ O ₆ -Cortisona	— 223	—

AUTHOR'S SUMMARY

Studies made both on a healthy subject and on a patient with adrenal insufficiency show that corticosterone:

- 1) active both as a mineralocorticoid and glucocorticoid.
- 2) Neither lowers circulating eosinophiles nor increases urinary 17 ketosteroids
- 3) Greatly inhibits cortical function, when given at a daily intramuscular dosage of 200 milligrams.
- 4) While passing through the organism suffers several changes, especially reduction at the A ring. Of such products, only one could be identified, a tetrahidrile from compound A, possibly the pregnano 3 α 21 diol, 11-20 dione. Such finding is interesting, since it shows that the body is capable to oxide the hidroxile of the carbon 11 from corticosterone.

Several other five-oxygen steroids, seemingly coming from the adrenal cortex of the subject under study, were isolated. Among them, cortisone and probably hydrocortisone were identified. Other compounds, whose polarity was similar to that of three-oxygen corticoids, could not be identified.

BIBLIOGRAFIA

1. Reichstein, T. and Shoppe C. W. The Hormones of the Adrenal Cortex. Vitamins and Hormones. Vol. I. Pg. 846. 1943. Academic Press. New York.
2. Dorfman, R. I. The Bioassay of Adrenocortical Hormones Recent Progress in Hormone Research. Vol. VIII. Pg. 53. 1953. Academic Press. New York.
3. Thorn, G. W.; Koepf, G. F.; Lewis, R. A. and Olsen E.F. Carbohydrate Metabolism in Addison's Disease Journal of Clinical Investigation. Vol. 19. Pg. 831. 1940.
4. Ferrebee, J. W.; Ragan, C.; Atchley, D. W. and Loeb, R. F. A comparison of the effect of Desoxycorticosterone acetate, corticosterone and cortical extract on a patient with Addison's Disease. Vol. 27 Pg. 360. 1940.
5. Haines W. J. Studies on the Biosynthesis of Adrenal Cortical Hormones. Recent Progress in Hormones Research. Vol. VII. Pg. 255. 1952.
6. Hechter, O, Zaffaroni, A.; Jacobsen, R. P.; Levy, H.; Heanloz, R. W.; Schenker, V.; and Pincus, G. The nature and the biogenesis of the Adrenal Secretory Products. Recent Progress in Hormone Research. Vol. VI. Pg. 215. 1951.
7. Conn, J. W.; Fajans, S.; Louis, L. H. and Johnson. B. Metabolic and Clinical Effects of Corticosterone (Compound B) in man. Second ACTH Conference. Vol. I. Pg. 221. 1951.
8. Conn, J. W.; Fajans S. S. and Louis, L. H. Metabolic Effects in man of orally and parenterally administered Corticosterone (Compound B). Transactions of the Association of American Physicians. Vol. LXIV. Pg. 269. 1951.
9. West Ch. D.; Pearson, O. H. and Kappas A. Physiological effects of corticosterone in man. The Endocrine Society Program. 35th Meeting. Pg. 23. 1953.
10. Wilkins, L. W.; Gardner L. I.; Grigler, J. F.; Silverman, S. H. and Migeon C. S. Further studies on the treatment of Congenital Adrenal Hyperplasia with

- Cortisone. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. Vol. 12. Pg. 257. 1952.
11. Wolfson, W. O.; Miuko, E. and Robinson, W. D. Human Corticosterone Metabolism *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. Vol. 12. Pg. 970. 1953.
 12. Wolfson, W. Q.; Chambliss, M. and Robinson, W. D. Human Corticosterone Metabolism. 2- The urinary Pattenkoffer Chromogen increased by corticotropin or corticosterone is not dehydroepiandrosterone. *The Endocrine Society Program*. 35th. Meeting. Pg. 34. 1953.
 13. Fishman, W. H., and Talalay R. A. simplified method of preparing active extracts of B-Glucuronidase. *Science*. Vol. 105. Pg. 131. 1947.
 14. Zaffaroni A. Micromethods for the analysis of Adrenocortical Steroids. *Recent Progress in Hormone Research*. Vol. VIII. Pg. 51. 1953.
 15. Cruz Aguayo, R. Cromatografía en papel para esteroides. *Técnica General*. Tesis recepcional, Escuela de Ciencias Químicas. Universidad Motolinía. México, D. F.
 16. Schneider, J. J. Studies on the excretion of Adrenocortical Compounds *Journal of Biological Chemistry*. Vol. 183. Pág. 365. 1950.
 17. Zaffaroni, A.; Burton R. B. and Keutman E. U. Adrenal Cortical Hormones. Analysis by paper partition chromatography and occurrence in the urine of normal persons. *Science*. Vol. III. Pg. 6. 1950.
 18. Sprague, R. G.; Power, M. H.; Mason, H. L.; Albert, A.; Mathieson, D. R. Hench, P. S.; Kendall, E. C.; Slocumb, Ch. C. and Polley, H. F. Observations on the physiological effects of Cortisone and ACTH in man *Archives of Internal Medicine*. Vol. 85. Pg. 199. 1950.
 19. Del Greco, F.; Masson, G. M.; and Corcoran A. C. Effects of Corticosteroids on urinary formaldehydogenic steroids and 17-Ketosteroids in normal and subtotally hepatectomized rats. *Endocrinology*. Vol. 52. Pg. 474. 1953.
 20. Naranjo, R. Metabolismo de los esteroides en los tejidos. Tesis recepcional. Escuela de Bioquímica. Instituto Politécnico Nacional. 1953.
 21. Burton, R. B.; Keutman, E. H. and Waterhouse, The conversion of Cortisone Acetate to other alpha-ketolic steroids *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. Vol. 13. Pg. 48. 1953.
 22. Burnstein, S. Savard, K and Dorfman R. I. The in vivo metabolism of Cortisone *Endocrinology*. Vol. 52. Pg. 448. 1953.
 23. Burnstein, S.; Savard K, and Dorfman, R. I. The in vivo metabolism of Hydrocortisone. *Endocrinology*. Vol. 53. Pg. 88. 1953.
 24. Pearlman, W. H.; Pincus G. and Werthessen. N. T. The isolation of Allo-prenano -3-beta-one-20 from Human Pregnancy urine *Journal of Biological Chemistry*. Vol. 142. Pg. 469. 1942.

COMENTARIO AL TRABAJO DEL DOCTOR FRANCISCO GOMEZ MONT

SALVADOR ZUBIRÁN
Académico de número

Desde hace más de veinte años se ha enfocado particular atención al conocimiento de las glándulas suprarrenales, tanto en el aspecto de su función, como en múltiples problemas de la bioquímica de sus hormonas, lo que ha dado lugar a la conquista de extraordinarias revelaciones acerca de la fisiología del órgano, que, por su importancia, han llegado a revolucionar los conceptos y las ideas filosóficas sobre la enfermedad, han dado nuevo apoyo a las geniales teorías de Claudio Bernard y Cannon sobre la conservación del medio interno y la homeostasis, y culminan recientemente con las ideas de Selye sobre el síndrome general de adaptación.

Lo más saliente de los estudios sobre las glándulas suprarrenales está indudablemente constituido por el conocimiento de sus hormonas esteroides. Un nuevo campo a la bioquímica y a la fisiología se abrió con el descubrimiento de estas sustancias, cuya acción en el cuerpo humano es tan significativa.

En 1934, Kendall obtuvo una sustancia activa de la glándula suprarrenal, que, desde el comienzo, se supo que contenía principios activos diversos, los que en 1936 y 1937 fueron identificados por Reichstein como sustancias esteroides; hasta ahora se han identificado 29 sustancias esteroides de la corteza suprarrenal, que han ocupado la atención de los técnicos y clínicos para resolver multitud de problemas que sobre ellas se suscitan. ¿Cuáles de ellas son puestas a la circulación sanguínea como hormonas activas naturalmente originadas en la glándula? ¿Cuáles son solamente precursoras o fases previas de las hormonas naturales? ¿Cuáles sólo resultantes químicas de las técnicas empleadas en su investigación? ¿Cuál es su origen y los procesos que comprende su elaboración? ¿Cuáles los misterios de su metabolismo final? Y por último, ¿qué participación tienen en su producción las hormonas hipofisiarias? Estas interrogaciones y muchas otras más se ocurren en el estudio de las sustancias esteroides.

Puede pensarse, por tanto, que el estudio de las sustancias esteroides constituye un campo cuya exploración apenas se ha iniciado y que segura-

mente en el futuro dará mayores luces en el conocimiento del complicado mecanismo del funcionamiento endócrino.

Se han aplicado los métodos más complejos y difíciles para el estudio de estas sustancias, entre los que está el de la perfusión y la biosíntesis por la incubación de esteroides con pulpa de glándula suprarrenal, que descubren la existencia de procesos enzimáticos en la glándula, capaces de inactivar hormonas esteroides activas y de convertir las inertes y sin acción en principios activos útiles; así, esta acción enzimática puede transformar la cortisona en esteroides inactivos o el compuesto S de Reichstein de escasa actividad, en compuesto F de conocida potencia glucocorticoide. Para su conocimiento, su identificación y hacer posible la separación de un compuesto de otro, se han utilizado procedimientos que son conquistas de un gran valor para la ciencia, porque permiten cuantificar cantidades pequeñísimas de estas sustancias. Uno de estos procedimientos es el de la cromatografía en papel, de extraordinaria precisión, instrumento bioquímico de gran utilidad, que Zaffaroni adoptó para el estudio de las sustancias esteroides.

Los conocimientos que se han adquirido por medio de la aplicación de estos métodos y técnicas, han hecho cambiar muchas de las ideas sostenidas anteriormente respecto a estas sustancias esteroides y han permitido, además, obtenerlas en cantidades suficientes para su aplicación clínica. Por biosíntesis, transformando una hormona en otra, se han obtenido cantidades suficientes de esteroides activos para su ensayo clínico. Partiendo de la doca, se ha obtenido la corticosterona que el doctor Gómez Mont ha utilizado en sus estudios, motivo del trabajo que ha presentado a la consideración de la Academia en esta ocasión.

Las hormonas de origen suprarrenal son ahora mejor conocidas, pero aún quedan multitud de incógnitas que resolver respecto a ellas, ya que ni siquiera es posible decir exactamente cuál o cuáles son las que en el organismo se utilizan para llenar la función de esta importante glándula de secreción interna.

Los primeros estudios realizados con la desoxicorticosterona (doca), su marcada influencia sobre el sodio, cloro y potasio, hicieron que se la conceptuara como la hormona de acción mineralocorticoide que las suprarrenales ponen en circulación. Posteriormente, el descubrimiento de la cortisona, su acción sobre el metabolismo glúcido y su acción antiflogística, la señalaron como la hormona de acción glucocorticoide. Estudios posteriores hacen dudar de que estas dos sustancias sean las verdaderas hormonas suprarrenales, ya que el descubrimiento de otras sustancias esteroides de acción

glucocorticoide más potente, como el compuesto \bar{F} , ha hecho que se le considere como la verdadera hormona segregada por la glándula.

Los más recientes trabajos sobre la corticosterona, que en sí contiene en armónica proporción la acción glucocorticoide y mineralocorticoide, han inclinado a algunos investigadores a pensar que sea ésta una verdadera hormona suprarrenal de acción principalmente mineralocorticoide.

Hecho que singulariza a las hormonas esteroides, es el de contener, independientemente de su acción preponderante, posibilidades de acción, aunque en menor escala, de otra acción, la que en ocasiones puede ser antagonista de la primera. Así, las hormonas suprarrenales de acción preponderantemente glucocorticoide, como la cortisona y el compuesto F, encierran posibilidades de acción mineralocorticoide, y la desoxicorticosterona, preponderantemente mineralocorticoide, es capaz de ejercer mínima acción glucocorticoide.

La corticosterona tiene la particularidad de contener más armónicamente, la combinación de los dos tipos de acciones.

Los trabajos recientes de Heins, Hechter y Thorn, sugieren que la corticosterona puede conceptuarse como la hormona fisiológica suprarrenal. La aplicación de esta hormona a los sujetos normales y especialmente a los addisonianos, determina efectos semejantes a los de la desoxicorticosterona y parecidos también, aunque en menor escala, a los de la cortisona. Esta acción mixta ha hecho que se le considere como el tratamiento adecuado para la insuficiencia suprarrenal, como ha sido ya expresado en el trabajo del doctor Gómez Mont.

Es preciso mencionar, por otra parte, que las hormonas con preminente acción mineralocorticoide, como la doca y la corticosterona, no registran una capacidad antiflogística apreciable, carecen de esa intensa acción antirreumática de la cortisona y el compuesto F, como si esta acción sólo se revelara en los esteroides que tienen fuerte preeminencia glucocorticoide.

Todas las consideraciones anteriores han hecho que se ponga considerable interés en el estudio de la corticosterona y tiene, por esta circunstancia, particular interés el trabajo realizado por el doctor Gómez Mont.

Dicho trabajo comprende dos aspectos, a cual más valiosos; un aspecto clínico de útil aplicación práctica, como es el medir los efectos de la aplicación de esa hormona esteroide en un sujeto normal y en un addisoniano. Sus observaciones a este respecto concuerdan con los hallazgos de otros investigadores como Conn y West. El otro aspecto del trabajo, es una contribución al estudio del metabolismo de esta sustancia esteroide. Para llevarlo a cabo, tuvo que aplicar los métodos de cromatografía en papel, y por el solo hecho de haber realizado este estudio, está mostrando su pre-

paración y dedicación esmerada a estas actividades en el laboratorio de hormonas del Hospital de Enfermedades de la Nutrición, donde es satisfactorio expresar, se realizan este tipo de investigaciones desde hace algunos años.

En este aspecto, el doctor Gómez Mont encuentra metabolitos resultantes de la administración de la corticosterona, que, como digo, contribuyen al conocimiento del metabolismo de esta substancia.

Esta clase de estudios, que aparentemente no tienen ninguna aplicación clínica inmediata, son de gran importancia y significación, porque el conocimiento de los cambios metabólicos que sufre la hormona en el organismo, después de su administración abre camino para investigaciones posteriores, que seguramente podrán tener utilidad clínica, además de contribuir poderosamente al conocimiento de la función que las glándulas y las hormonas ejercen en el organismo.

Los procedimientos puestos en práctica por el doctor Gómez Mont para este estudio, están previendo la posibilidad de que lo que ahora se ha utilizado únicamente para la investigación pura, tenga más tarde una aplicación clínica y permita substituir los procedimientos gruesos de análisis, en las determinaciones hormonales, por procedimientos más finos y más precisos.

Debe ser motivo de satisfacción y de felicitación al doctor Gómez Mont, el saber que este tipo de trabajos ya se realizan en nuestro país, y es particularmente satisfactorio para el Hospital de Enfermedades de la Nutrición, que sea en dicha Institución en donde se llevan a cabo.