

PUBLICACIONES DEL INSTITUTO DE FISILOGIA

Director: Profesor Francisco Hoffmann

UNIVERSIDAD DE CHILE

11(796-13)

NUEVOS CONCEPTOS FISIO-PATOLO-
GICOS DE LA HIPERTIREOSIS

★

NEW PHYSIO-PATHOLOGIC ASPECTS
OF HYPERTHYREOSIS

POR

Francisco Hoffmann

Y

Elena J. de Hoffmann

PRENSAS
DE LA
UNIVERSIDAD DE CHILE
1944

VISITACION
de IMPRENTAS y BIBLIOTECAS

ABR 4 1944

DEPOSITO LEGAL

PUBLICACIONES DEL INSTITUTO DE FISIOLÓGIA

Director: Profesor Francisco Hoffmann

UNIVERSIDAD DE CHILE

11(796-13)

NUEVOS CONCEPTOS FISIO-PATOLO-
GICOS DE LA HIPERTIREOSIS



NEW PHYSIO-PATHOLOGIC ASPECTS
OF HYPERTHYREOSIS

POR

Francisco Hoffmann

Y

Elena J. de Hoffmann

PRENSAS
DE LA
UNIVERSIDAD DE CHILE
1944

INTRODUCCION

Es un hecho clínico indiscutible la existencia de una íntima correlación funcional entre glándula tiroides y sistema nervioso, y llama por esto la atención el que se encuentren, en la voluminosa bibliografía, sólo tan escasos datos experimentales referentes al estado funcional del sistema nervioso en la hipertireosis.

Hace algunos años iniciamos estudios que tienen por objeto analizar la respuesta de algunos efectores neurovegetativos y somáticos a la estimulación de los nervios respectivos, en animales normales e hipertireóticos.

En la presente exposición, nos proponemos presentar, en forma sucinta, las alteraciones características encontradas por nosotros en la tirototoxicosis. Al estimular nervios periféricos en animales hipertireóticos no sólo se nos revela que el efector correspondiente responde en forma muy anormal, sino que también se presentan manifestaciones generales que nos obligan a suponer que, a consecuencia de la estimulación, pasan a la circulación agentes farmacológicamente activos que ejercen una intensa acción humoral.

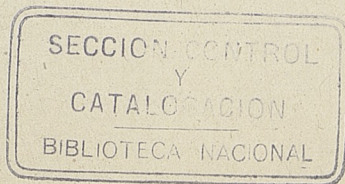
BIBLIOTECA NACIONAL
SECCION CHILENA

INTRODUCTION

It is an unquestionable clinical fact that there exists a very close functional correlation between the thyroid gland and the nervous system. It is, therefore, very remarkable that in the enormous bulk of literature pertaining to the thyroid function, only scarce experimental data can be found on the behaviour of the nervous system in hyperthyreosis.

Some years ago we began to study the reaction of certain autonomic and somatic effectors to the stimulation of their corresponding nerves in normal and hyperthyreotic animals.

In the present paper, it is our aim to inform briefly on some characteristic disturbances we have observed in thyrotoxicosis. We found that by stimulating the peripheral nerves in hyperthyreotic animals there can be observed not only an abnormal effector response, but also general disturbances which can only be explained by assuming that as a consequence of nervous stimulation some pharmacologically active substances are discharged into the blood exerting a very marked humoral action.



Se plantea la hipótesis según la cual la hormona tiroidea actuaría primeramente sobre el metabolismo de los fosfolípidos, cuerpos estos que, al desdoblarse, dan origen a sustancias fuertemente activas que, normalmente, serían neutralizadas por ciertos agentes antitóxicos del tipo de los esteroides. Este esquema nos parece de valor porque existen algunos hechos experimentales y clínicos que parecen apoyar la hipótesis planteada; porque permite llevar a un denominador común tanto las fallas de la neurotransmisión como las alteraciones humorales observadas por nosotros y, finalmente, porque, por una parte, suministra bases teóricas para ciertas medidas terapéuticas que ya se practican, y por otra parte, sugiere nuevas posibilidades en este sentido.

Santiago, Diciembre de 1943.

F. y E. J. HOFFMANN.

We suggest that the thyroid hormone could exert a direct action on the cleavage of the phospholipids which, as it is wellknown, give origin to very active compounds. We suppose that these cleavage products may normally be neutralized by antitoxic principles chemically related to the sterols.

We think that this scheme is worth of consideration because certain experimental and clinical observations seem to support this view and because it permits to bring to a common denominator the disturbances in neuro - transmission as well as the humoral changes observed. Finally it gives a theoretical support to certain therapeutic procedures already in use and, furthermore, it suggests new possibilities for the treatment of hyperthyreosis.

Santiago, December 1943.

F. & E. J. HOFFMANN

BIBLIOTECA NACIONAL
SECCION CHILENA

NUEVOS CONCEPTOS FISIO - PATOLOGICOS DE LA HIPERTIREOSIS

Para formarse un concepto de los íntimos mecanismos mediante los cuales interviene la hormona tiroidea en la producción de las conocidas manifestaciones del hipertireoidismo, se ha enfocado el problema principalmente desde el punto de vista de la acción metabólica general de esta hormona. Existe un enorme material experimental, en relación con este tema, que no sólo se limita a estudios metabólicos en el animal total sino también en órganos y tejidos aislados. Pero, a pesar de la extraordinaria cantidad de datos de que se dispone, aún no es posible precisar el modo de actuar de la hormona. Su acción estimuladora del metabolismo es un hecho indiscutible (por lo menos para animales homeotermos), pero no nos explica las múltiples y tan variadas manifestaciones del hipertireoidismo, y el hecho de que se hayan planteado tantas teorías que pretenden dar una interpretación de las alteraciones circulatorias, las gastro-intestinales, oculares, musculares y nerviosas, nos demuestra, por sí sólo, que falta una explicación general adecuada del mecanismo de acción de la hormona.

Un campo que nos pareció particularmente digno de estudio, es el de las manifestaciones nerviosas del hipertireoidismo, debido a que se dispone, especialmente para este análisis, de métodos experimentales que permiten obtener datos objetivos exactos.

Desde que se estudian las manifestaciones clínicas del hipertireoidismo, se habla en forma dogmática de «hiperexcitabilidad nerviosa». Usamos la palabra «dogmática» porque, por mucho que se revise la literatura, no se encuentran datos sobre estudios relativos a la excitabilidad de las estructuras nerviosas en el hipertireoidismo. Lo dicho parece extraño, pero es la realidad. Los antiguos experimentos de von Cyon (39), Asher

NEW PHYSIO - PATHOLOGIC ASPECTS OF HIPERTHYREOSIS

A great deal of experimental work has been done to elucidate the intimate mechanisms of action of the thyroid gland and the rôle it plays in the production of the well known manifestations of hyperthyroidism. The usual approach to this problem has been the study of the general metabolic effect of the hormone (on the whole animal and on isolated organs and tissues); but in spite of the enormous bulk of information available at present, it has not yet been possible to determine, as far as we know, the mechanism of its action. That this hormone exhibits a definite stimulating action on the metabolism cannot be doubted (at least for warm blooded animals); but this does not explain the varied manifestations of hyperthyroidism, and the fact that so many theories have been put forward to explain the circulatory, gastro-intestinal, ocular, muscular and nervous disturbances, is a proof in itself of the lack of an adequate general explanation concerning the mechanism of action of this hormone.

It seemed to us of particular interest to study the nervous manifestations of hyperthyroidism, because of the availability for such a purpose, of reliable experimental methods giving clear cut and accurate results.

Most of the clinical manifestations of hyperthyroidism have been dogmatically attributed to a condition of nervous «hyperexcitability». We say «dogmatically» because, strange, but true, not a single experimental study may be found in the whole literature, on this so called over-excitability of the nervous structures in hyperthyroidism. The old experiments of von Cyon (39), Asher (13, 14, 15), etc., who injected thyroid extracts, in acute experiments, and found changes in the nervous excitability, were controlled later on by other authors (1, 26, 147, 149,

(13, 14, 15), etc., autores que suministraron preparados de tiroides en forma aguda por vía parenteral y que creyeron haber encontrado cambios en la excitabilidad nerviosa, fueron controlados posteriormente por otros autores (1, 26, 147, 149, 155) con tiroxina pura, habiendo sido los resultados completamente negativos, lo que permite afirmar que los cambios de excitabilidad observados se deben considerar más bien como inespecíficos y producidos por las albúminas u otras impurezas del preparado suministrado. Después de haberse reconocido que la hormona tiroidea no actúa en forma inmediata, habría sido lógico, por supuesto, estudiar la excitabilidad de los nervios de animales realmente hipertireóticos, o sea, de aquellos que han sido tratados en forma prolongada con dicha hormona. Muchas veces nos hemos preguntado por qué no se ha trabajado más sistemáticamente sobre un fenómeno de tanta importancia.

Se ha creído posible solucionar el problema de la excitabilidad nerviosa, estudiando la reacción de los efectores simpáticos frente a la Adrenalina, identificando la acción que tiene esta sustancia con el efecto producido por la excitación de las fibras adrenérgicas correspondientes. La mayoría de los autores encuentra que, en animales hipertireóticos, los órganos inervados por el simpático se hacen más sensibles a la Adrenalina (Bibl. resumida en 81) y simplemente concluyen que se trata de «hiper-excitabilidad simpática». Pero, ¿es permitida esta conclusión?, ¿es la reacción de un órgano efector simpático frente a la Adrenalina la expresión de la excitabilidad de las fibras adrenérgicas? Ya nos planteamos esta misma pregunta cuando en el año 1936 publicamos nuestros trabajos sobre la reacción, frente a la Adrenalina, de órganos provenientes de animales tanto normales como hipo e hipertireóticos, y, en vista de esta duda, nos cuidamos de hablar de «hipo o hiper-excitabilidad simpática», limitándonos a constatar el hecho de que en la hipertireosis ciertos efectores, como por ejemplo el corazón, se hacen hipersensibles a la Adrenalina (83, 84) mientras que, en animales tiroidectomizados, la musculatura radiada del iris, por ejemplo, reacciona menos a esta sustancia (85). Nos pareció absurdo identificar la reacción de sensibilización a la Adrenalina con una sobre-excitabilidad del simpático y nos preguntamos si no sería más lógico, por el contrario, pensar que la hormona tiroidea produciría algo así como una *enervación* de los efectores simpáticos y que la sobre-excitabilidad frente a la Adrenalina, sería motivada por una disminución de los estímulos simpáticos. Para este modo de pensar nos sirvió de apoyo la tan conocida observación de que las estructuras desprovistas de su inervación se hacen más sensibles a los mediadores químicos correspondientes; así, a consecuencia de la extirpación del ganglio cervical superior, por ejemplo, el iris (113, 49) y la membrana nictitante (113) aumentan de una manera extraordinaria su sensibilidad frente a la Adrenalina circulante; lo mismo ocurre con el corazón (33) después de la extirpación de los ganglios simpáticos respectivos y con el intestino enervado (154, 104). Esta misma sensibilización, después de la enervación, vale también para los efectores colinérgicos. El esfínter pupilar baja su umbral a la Acetilcolina cuando se ha extirpado previamente el ganglio ciliar (142, 93) y, sobre todo, la musculatura esquelética enervada se sensibiliza extraordinariamente a la Acetilcolina que recibe por vía sanguínea («reacción de enervación») (62, 41, 40, 32),

155) with pure thyroxine, the results being completely negative. This would rather indicate that the changes of excitability observed could have been unspecific and produced by the proteins and other impurities in the extracts. Once it became evident that the thyroid hormone does not act acutely, it would have been necessary, of course, to study the excitability of the nerves in animals really hyperthyreotic, i. e., treated over a prolonged period with the hormone. We have often wondered why such an important problem has not been investigated more systematically.

Many times the question of nervous excitability has been focused by studying the reaction of the sympathetic effectors to Adrenaline, in an attempt to identify the action of this substance with the effect produced by the excitation of the corresponding adrenergic fibers. Most of the authors find that, in hyperthyreotic animals, the organs innervated by the sympathetic system become more sensitive to Adrenaline (Bibl. cited in 81) and they conclude that this fact is due to «sympathetic over-excitability». However, is this conclusion permissible? Is the reaction of a sympathetic effector to Adrenaline the expression of the excitability of its adrenergic fibers?

We do not consider such an explanation either accurate or sufficiently demonstrated. We doubted already about it when we published our results (1936) on the reaction to Adrenaline, as observed upon organs in normal as well as hypo and hyperthyreotic animals. Accordingly, in view of this doubt, we were careful to express it in terms of sympathetic «hypo or hyperexcitability». We simply recorded the fact that in the hyperthyreosis certain effectors, e. g. the heart become hypersensitive to Adrenaline, while, in thyroidectomized animals, the radiated muscle of the iris, for example, reacts less to this substance (85). It did not seem to us correct to identify the increased reaction to Adrenaline with an over-excitability of the sympathetic fibers. Just on the contrary, we thought it would be more acceptable to suppose that the thyroid hormone would produce something like a *denervation* of the sympathetic effectors and that the increased sensitivity to Adrenaline, would be the result of the reduction of the sympathetic impulses which normally control the effector. We were supported in this belief by the wellknown observation that the structures deprived of their innervation become more sensitive to the corresponding chemical mediator; thus, as a result of the extirpation of the superior cervical ganglion, e. g., the iris (113, 49) and the nictitating membrane (113) increase in an extraordinary manner their sensibility to circulating Adrenaline; the same applies to the heart (33) after the extirpation of the respective sympathetic ganglions and with the denervated intestine (154, 104). This same sensibilization after the denervation, applies equally in the case of cholinergic effectors. The pupillary sphincter lowers its threshold to Acetylcholine when the ciliar ganglion (142, 93) has been previously extirpated and, above all, the enervated skeletal muscles become extraordinarily sensitive to Acetylcholine injected into the blood-stream («reaction of denervation») (62, 41, 40, 32).

The theoretical possibility of a more or less complete nervous blockage in thyro-

La teoría de un posible bloqueo más o menos intenso de la vía nerviosa en la tirotoxicosis nos pareció digna de ser analizada, tanto más cuanto que creíamos factible explicar tal vez ciertos fenómenos de esta enfermedad como resultado de una sensibilización de los efectores a los estímulos químicos, a consecuencia de una enervación más o menos completa. Así pensábamos que podría interpretarse la taquicardia, como debida a un cierto grado de enervación simpática cardíaca, enervación que sería la causa de una mayor receptabilidad del corazón a la Adrenalina circulante, hormona que, como es sabido, es entregada en la hipertireosis en mayor cantidad a la sangre (17, 157). Otro fenómeno, como por ejemplo, la reacción de Loewy (dilatación pupilar por instilación de Adrenalina en la conjuntiva, como síntoma hipertireótico) (52,53) encontraría también una explicación semejante. ¿Y el temblor tan característico de la enfermedad de Basedow, no podría explicarse tal vez por contracciones fibrilares de una musculatura semi-enervada que reaccionaría, por consiguiente, a la Acetilcolina presente?; la deficiente inervación explicaría también quizá más satisfactoriamente la tan característica debilidad muscular de la hipertireosis. Igualmente, la gran dilatación vascular periférica, podría atribuirse a una inervación perturbada de los vasos; finalmente, otras manifestaciones del hipertireoidismo, como las gastro-intestinales, oculares, etc., enfocadas a la luz de esta hipótesis, podrían ser llevadas asimismo a un denominador común: sensibilización de los efectores a los estímulos químicos a consecuencia de un bloqueo nervioso parcial.

Tal hipótesis, como veremos más adelante, no se ha podido verificar experimentalmente en toda su extensión; pero ha tenido para nosotros el gran valor de habernos conducido por un camino experimental nuevo y extraordinariamente fructífero.

Antes de trazar el plan experimental nos preguntamos: ¿Cuál podría ser el sitio más probable del obstáculo en la neuro-transmisión? Ya los fundamentales trabajos de Langley, mostraron que los puntos más lábiles en la vía simpática periférica se encuentran en las sinapsis ganglionares, estructuras que pueden ser eliminadas funcionalmente mediante la aplicación directa de fármacos, como por ejemplo la nicotina.

En los últimos años se han estudiado extensamente las características de la neuro-transmisión en las diferentes sinapsis y las influencias que tienen factores humorales y farmacológicos sobre estas formaciones. Nos pareció absolutamente necesario esclarecer las modalidades de la transmisión sináptica en animales hipertireóticos, para lo cual era preciso investigar la excitabilidad nerviosa y la respuesta de los efectores correspondientes.

Uno de los escasos datos experimentales que encontramos en la literatura, en relación con el problema nuestro, se halla en un trabajo de Albertoni (16). Este autor (en 1916) había suministrado a perros y conejos dosis considerables de glándula tiroides fresca durante períodos *prolongados* y observó que el efecto cardíaco característico de la estimulación del vago es más difícil de obtener en los animales hipertireóticos que en los normales, fenómeno que, según Albertoni, daría lugar a una

toxicosis appeared worth while to be analyzed, specially as we thought it would be possible, perhaps, to explain certain phenomena of this disease as a result of the sensibilization of the «denervated» effectors to the chemical stimulus. Thus, we thought that the tachycardia could be interpreted as being due to a certain degree of cardiac sympathetic denervation, such denervation being the cause of a greater receptability of the heart to the circulating Adrenaline, a hormone which, as it is wellknown, in hyperthyreosis, is liberated into the blood in greater amounts (17, 157). Another phenomenon, the Loewy reaction, (pupillary dilatation through the instillation of Adrenaline in the conjunctiva, as a hyperthyreotic symptom.) (52, 53), could also be explained in a similar manner. Moreover, the tremor so characteristic of Grave's disease, could it not perhaps be explained by fibrillar contractions of a semi-denervated musculature which would react, in consequence, to the Acetylcholine present in the blood? The deficient innervation would also explain more satisfactorily the characteristic muscular weakness in hyperthyreosis. Likewise, the peripheric vascular dilatation could be attributed to a disturbed innervation of the vessels; and, finally, other manifestations of hyperthyroidism, such as the gastro-intestinal, ocular symptoms, etc., examined in the light of this hypothesis, could in like manner be carried to a common denominator: sensibilization of the effector to chemical stimulus as a consequence of a partial nervous blockage.

As will be seen further on, it has not been possible to carry out a complete verification of such a hypothesis, which however has been of great value in leading us through new experimental paths.

Before planning our experiments we tried to find out the most probable site of the obstacle in the neuro-transmission. The fundamental experimental work of Langley has already shown that the most labile points in the peripheric sympathetic system are to be found in the ganglionic synapses, which can be functionally eliminated through the direct application of certain drugs, e. g., nicotine.

In recent years extensive studies have been made of the characteristics of the neuro-transmission in the different synapses and of the influences which humoral and pharmacological factors exert on these structures. It seemed absolutely necessary to investigate the synaptic transmission in hyperthyreotic animals, for which it was required to study the nervous excitability and the responses of the corresponding effector-organs.

Amongst the limited experimental information to be found in literature, there is a reference, in connection with our problem, in a paper by Albertoni (16). This author (1916), gave by mouth considerable amounts of fresh thyroid gland to dogs and rabbits over prolonged periods and observed that it is more difficult to obtain the characteristic vagus-cardiac effect in hyperthyreotic than in normal animals. After this observation, Albertoni was inclined to explain tachycardia as a result of a relative predominance of the sympathetic tonus. These experiments have been confirmed later on (117). It is true that their results

prevalencia del tonus del simpático (taquicardia). A pesar de que estos resultados no son absolutamente convincentes, llama sin embargo la atención el que estos experimentos, comprobados posteriormente (117), no hayan tenido mayor repercusión.

Con el fin de poner a prueba nuestra hipótesis de un posible bloqueo nervioso periférico, elegimos como animal de experimentación el conejo y como órganos efectores el músculo radiado del iris y el corazón (*Experimentos. Serie A*). Reunimos un extenso material experimental en animales normales e hipertireóticos sobre las respuestas de estas estructuras periféricas a la estimulación del simpático y del vago, nervios que excitamos en su porción cervical. El resultado de estos experimentos, aunque no apoyaba francamente nuestra teoría de un bloqueo esencialmente sináptico, reveló sin embargo patentes anomalías en la respuesta de los efectores. En animales con un ligero grado de hipertireoidismo se pudo observar que el efecto pupilar se obtiene con un umbral de excitación bastante más bajo que el normal, pero en conejos que podíamos considerar como intensamente hipertireóticos se presentaba un fenómeno típico caracterizado por una gran *fatigabilidad* de la reacción pupilar, ya que ésta se producía sólo al iniciarse el período de excitación y desaparecía rápidamente a pesar de aumentarse la intensidad del estímulo. En otros animales hipertireóticos se constató que la dilatación pupilar (reacción que normalmente es graduable por la intensidad del estímulo) presenta un carácter que recuerda la «respuesta del todo o nada», ya que estímulos mínimos producían una reacción dada que no se lograba aumentar mediante la intensificación de la excitación. Ya en estos experimentos preliminares, pensamos que podría tratarse tal vez de una eliminación parcial de elementos nerviosos transmisores, eliminación que impediría que entre en función, a consecuencia de una estimulación más intensa, un número creciente de elementos nerviosos como sucede normalmente. Esta interpretación tiene cierto apoyo en el hecho de que en muchos animales hipertireóticos se obtiene solamente una reacción *segmental* de la pupila, mientras que el resto queda absolutamente rígido, no obstante la aplicación de intensas estimulaciones. Finalmente encontramos dos animales profundamente intoxicados con hormona tiroidea, en los cuales la excitación del simpático de un lado era completamente ineficaz, mientras que la del otro lado presentaba reacciones anormales.

Para resumir, se podría clasificar groseramente las alteraciones de las respuestas pupilares a la excitación indirecta en tres tipos que corresponden al grado de la hipertireosis: 1.º gran respuesta con pequeña intensidad de estímulo; 2.º respuesta con gran intensidad de estímulo que se caracteriza por una reacción no graduable o segmental del músculo radiado del iris, flojedad y gran fatigabilidad o inhibición de la reacción; y 3.º falta absoluta de respuesta frente a la estimulación. De manera

are liable to criticism, but nevertheless they are extremely suggestive and it is not understood why they have been so completely neglected.

Our preliminary experiments, conducted on the hypothesis of a possible peripheric nervous blockage, have been carried out on rabbits. We have chosen the atropinized radiated muscle of the iris and the heart as effectors (*Experiments. Series A*) to test on the changes produced in neuro-transmission on stimulating the sympathetic and vagus nerves at their cervical portion. An extensive number of experiments was performed. Their results, although not strictly supporting our hypothesis (a synaptic blockage) revealed however evident anomalies in the reaction of the effectors. It was observed that in animals with a slight degree of hyperthyreoidism, the pupillary effect to sympathetic stimulation was obtained at a considerably lower threshold than in normal animals. On the other hand rabbits which could be considered as really hyperthyreotic, showed a peculiar disturbance in the reaction consisting in a pronounced *fatigability* of the pupillary response, since the contraction of the radiated muscle appeared only at the beginning of stimulation and disappeared rapidly afterwards, no matter how much the intensity of the stimulus was increased. A certain number of these hyperthyreotic rabbits showed a somewhat different response, which recalled the «all or nothing» type of reaction. Indeed, a constant degree of dilatation appeared after a rather low stimulus and this reaction could not be increased by any further stimulation, although considerably stronger than the former.

Already in these preliminary experiments we thought there might exist a partial elimination of nervous elements, as a result of thyrotoxicosis. This sort of blockage would prevent, when a stronger stimulation is applied, the required number of nervous elements from taking part in the transmission, as it normally happens. This interpretation is supported to a certain extent by the fact that in many hyperthyreotic animals only a *segmental* reaction of the pupil is obtained, while the rest of it remains absolutely rigid, in spite of the application of intense stimulations.

Finally, we found two animals intensely intoxicated with thyroid hormone in which the stimulation of the sympathetic on one side was completely inefficacious, while the other presented abnormal reactions.

In brief, the alterations in the pupillary reactions to indirect stimulation could be roughly classified into three types which correspond to the degree of hyperthyreosis: 1) An intense reaction to a low stimulus; 2) An unusual response appearing only against a strong stimulus and consisting of an «all or none»-like or segmental reaction of the radiated muscle of the iris, weakness and great fatigability and early inhibition of the reaction; and 3) Absolute lack of any response to the stimulation.

que pudimos constatar que se producen, en la hipertireosis, *serias alteraciones en la transmisión simpática y en la respuesta del efector.*

Aun más típicos fueron los experimentos de excitación vagal en el conejo hipertireótico, pues no sólo logramos comprobar ampliamente los experimentos de Albertoni en el sentido de que la respuesta cardíaca a la excitación del vago, en la hipertireosis, es menos manifiesta, sino que, a veces, observamos sólo un efecto vagal inicial que desaparecía a consecuencia de estimulaciones repetidas. En otros casos, faltaba todo efecto cardíaco, y aquí no era raro encontrar, cuando se aumentaba la intensidad del estímulo, una *inversión* del efecto de la excitación vagal: aceleración cardíaca y ligera elevación de la presión arterial.

La alteración de la respuesta cardíaca a la estimulación del vago en la hipertireosis es un *fenómeno constante* y la hemos encontrado posteriormente en todas las especies examinadas (gatos, ratas, conejos), apareciendo en forma más o menos acentuada, según el grado de hipertireosis. En los casos en que existe efecto cardíaco relativamente pronunciado, la respuesta se extingue fácilmente mediante la acción de diversos factores. (Véase pág. 24 y Figs. 1, 2, 3).

Con frecuencia, sucede que debido a repetidas estimulaciones del vago, aún estando éste totalmente paralizado, aumenta progresivamente la presión sanguínea diferencial a expensas de un descenso de la mínima para bajar en seguida también la máxima. Cuando aparecen estas manifestaciones circulatorias no es raro que se presente un estado de colapso circulatorio periférico. En otros casos la muerte se produce aun más bruscamente: a veces, a pocos instantes después del término de la primera excitación ineficaz, baja súbitamente la presión por parálisis completa del corazón.

¿Qué significa esta parálisis vascular periférica y del corazón a consecuencia de las excitaciones del vago? Ya entonces se nos impuso la idea de que estas manifestaciones, provocadas por la estimulación nerviosa, no se podían atribuir sino a *la liberación de una sustancia tóxica que pasaría a la circulación.*

Pero, antes de esclarecer este problema, se hizo necesario investigar el mecanismo de la falta del efecto vagal cardíaco. ¿Se libera Acetilcolina en las terminaciones vagales en cantidades normales, insuficientes, o en exceso, o es que este transmisor es rápidamente destruido por un exceso de Colinesterasa en las terminaciones, o bien el miocardio se hace insensible a la Acetilcolina? Con el fin de penetrar en este

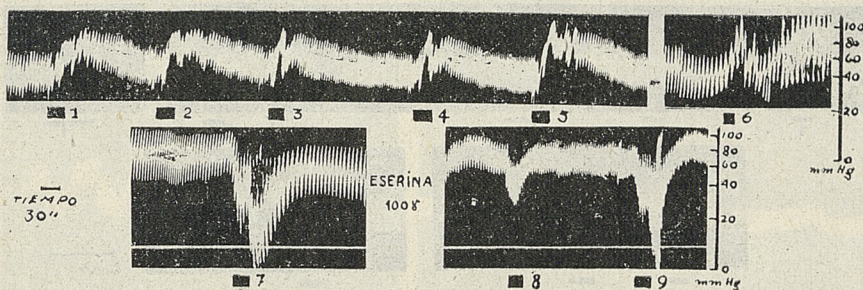


FIG. 1. — Conejo hipertireótico. Anestesia con uretano (11 cc de sol. al 25%).

Experimento del 25-VII-1941.

El animal pesaba 2,100 grs. y bajó a 1,750 grs. en 10 días, durante los cuales recibíó 7 dosis de polvos tiroides de 2 grs. cada uno con sonda gástrica.

Excitación del vago derecho con corriente alterna de 50 períodos.

Registro de presión arterial con cápsula elástica.

- 1) Excitación vago derecho con 0,6 volts (hubo efecto acelerador que no se aprecia en la gráfica).
- 2) Excitación vago derecho con 0,7 volts (hubo efecto acelerador, que no se aprecia en la gráfica).
- 3) Excitación vago derecho con 0,85 volts (hubo efecto acelerador, que no se aprecia en la gráfica).
- 4) Excitación vago derecho con 1,0 volts.
- 5) Excitación vago derecho con 2,7 volts.
- 6) Acetilcolina endov. 1 gama.
- 7) Acetilcolina endov. 5 gama.
- Entre 7 y 8 Eserina 100 gama.
- 8) Excitación vago derecho con 2,7 volts.
- 9) Acetilcolina endov. 0,1 gama.

FIG. 1. — Hyperthyreotic rabbit. Urethane (11 c.c. 25% sol.). 25-VII-1941.

Original weight 2,100 grs. After 10 days, during which 7 doses of 2 grs. dissicated thyroid were given by gastric sond, the weight fell to 1750 grs.

Stimulation of right vagus with 50 cycles A. C.

Blood pressure registered with membrane manometer.

- 1) Stimulation of right vagus with 0,6 volts (cardiac acceleration).
- 2) Stimulation of right vagus with 0,7 volts (cardiac acceleration).
- 3) Stimulation of right vagus with 0,85 volts (cardiac acceleration).
- 4) Stimulation of right vagus with 1,0 volts.
- 5) Stimulation of right vagus with 2,7 volts.
- 6) 1 gama Acetylcholine injected intravenously.
- 7) 5 gama Acetylcholine injected intravenously.
- Between 7 and 8: 100 gama eserine.
- 8) Stimulation of right vagus with 2,7 volts.
- 9) 0,1 gama Acetylcholine injected intravenously.

BIBLIOTECA NACIONAL
SECCION CHILENA

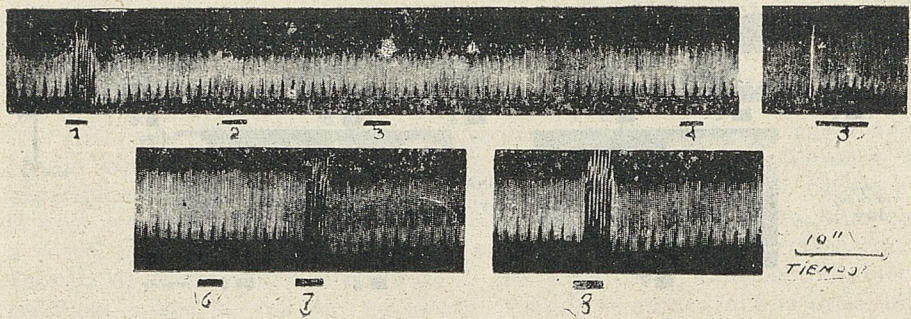


FIG. 2. — *Excitación del vago y efecto cardíaco EN RATAS hipertirocíticas.*

Experimento del 2-X-1941.

El animal (macho) recibió 5 dosis de 0,8 grs. de tiroides seco en 7 días, durante los cuales bajó de 225 grs. a 180 grs.

Anestesia Nembutal subcut. 0,015 grs.

Registro de la frecuencia y volumen cardíaco mediante oncógrafo y cápsula de Marey.

- 1) Excitación vago con 2,4 volt (50 períodos).
- 2) Excitación vago con 2,4 volts.
- 3) Excitación vago con 2,7 volts.
- 4) Excitación vago con 7,0 volts.
- 5) Eserina endov. 60 gama.
- 6) Excitación vago con 0,3 volts.
- 7) Excitación vago con 0,6 volts.
- 8) Excitación vago con 0,6 volts (10 minutos después).

FIG. 2. — *Effect of vagus stimulation on the heart of hyperthyroid rats. 2-X-1941.*

Male. Original weight 225 grs.; after 7 days during which 5 doses of 0,8 of dried thyroid were given orally the weight fell to 180 grs.

Nembutal 0,015 grs. subcutaneously.

Heart volume and rate recorded by cardiometer and Marey's tambour.

- 1) Stimulation of vagus with 2,4 volts (50 cycles).
- 2) Stimulation of vagus with 2,4 volts.
- 3) Stimulation of vagus with 2,7 volts.
- 4) Stimulation of vagus with 7,0 volts.
- 5) 60 gama eserine injected endovenously.
- 6) Stimulation of vagus with 0,3 volts.
- 7) Stimulation of vagus with 0,6 volts.
- 8) Stimulation of vagus with 0,6 volts 10 minutes later.

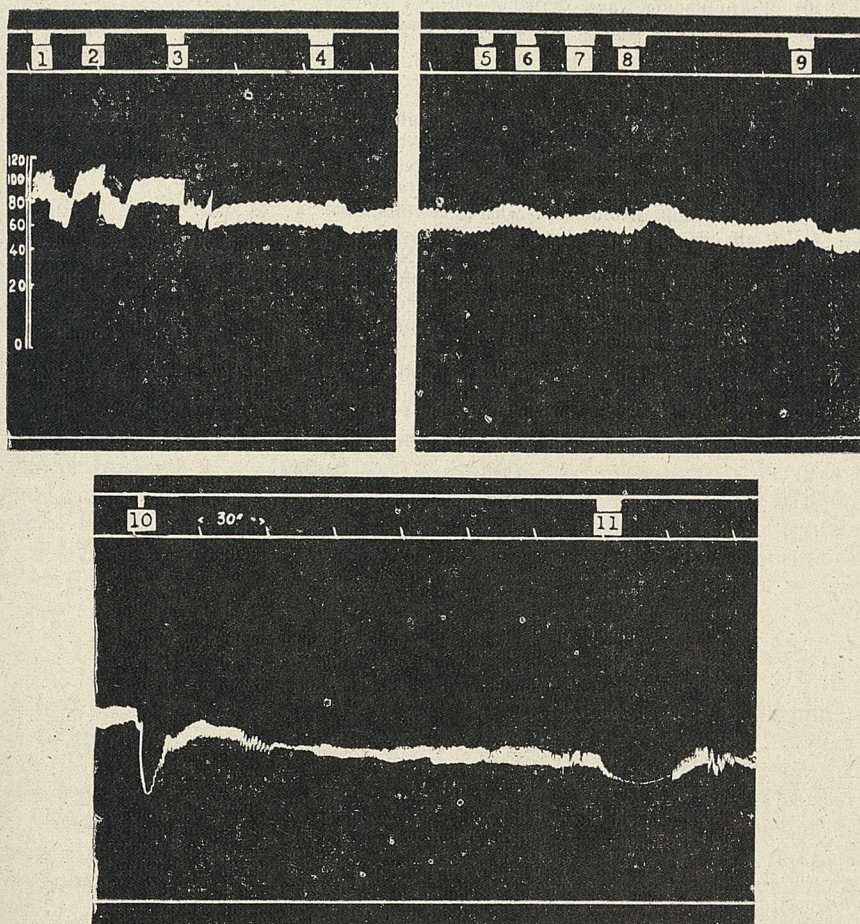


FIG. 3. — Exper. Ser. A N.º 37.

Gato hipertireótico, hembra. 13,5 mgrs. de tiroxina distribuidos en dosis parciales entre el 31-IX-1942 y el 27-X-1942. Baja de peso de 2,050 grs. a 1,050 grs. Anestesia con Dial (0,5 cc.). Registro presión arterial.

- 1) Estimulación del vago derecho con corriente alterna, frecuencia 50, 0,3 volts
- 2) Estimulación del vago derecho con corriente alterna, frecuencia 50, 0,6 volts.
- 3) Estimulación del vago derecho con corriente alterna, frecuencia 50, 0,9 volts.
- 4) Estimulación del vago derecho con corriente alterna, frecuencia 50 1,5 volts.

Nótese falta de efecto vagal característico.

- 5) Estimulación vago izquierdo con 0,3 volts.
- 6) Estimulación vago izquierdo con 0,9 volts.
- 7) Estimulación vago izquierdo con 1,5 volts.
- 8) Estimulación vago izquierdo con 3 volts.
- 9) Estimulación vago derecho con 3 volts.

Entre 9) y 10) : 0,25 mgrs. Prostigmína.

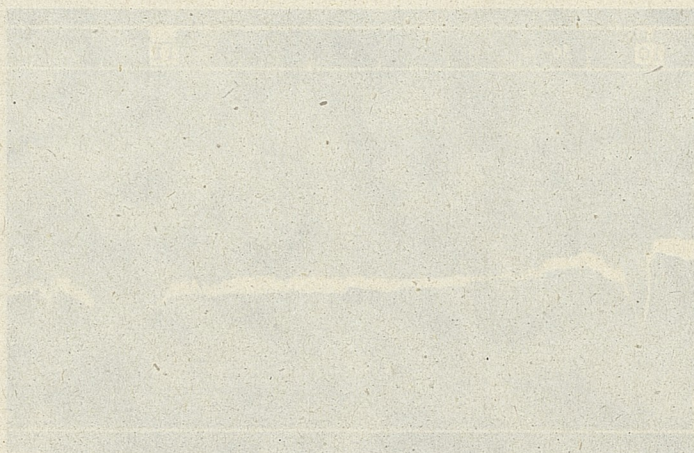
- 10) Estimulación vago derecho con 3,0 volts.
- 11) Estimulación vago izquierdo con 1,5 volts.

FIG. 3. — Exp. A-37.

Hyperthyreotic female cat. Original weight 2,050 grs.; after 13,5 mlgrms thyroxine administered from 31-IX-1942 to 27-X-1942, the weight fell to 1050 grs.

Dial 0,5 c.c. intraperitoneally. Blood pressure registration.

- 1) Right vagus stimulation with 0,3 volts, 50 cycles A. C.
- 2) Right vagus stimulation with 0,6 volts.
- 3) Right vagus stimulation with 0,9 volts.
- 4) Right vagus stimulation with 1,5. Note lack of characteristic vagus effect.
- 5) Left vagus stimulation with 0,3 volts.
- 6) Left vagus stimulation with 0,9 volts.
- 7) Left vagus stimulation with 1,5 volts.
- 8) Left vagus stimulation with 3 volts.
- 9) Right vagus stimulation with 3 volts.
- Between 9) and 10): 0,25 mlgrms. prostigmine.
- 10) Right vagus stimulation with 3,0 volts.
- 11) Left vagus stimulation with 1,5 volts.



We were able, therefore to prove the existence, in hyperthyreosis, of *serious disturbances in the sympathetic transmission and in the reaction of the effector.*

Our results, when trying the vagal stimulation effect on hyperthyreotic rabbits, were still more surprising. In many instances we were able to amply verify the experiments of Albertoni, who had found that the cardiac reaction to the stimulation of the vagus is less manifest in hyperthyreosis. Sometimes, we observed only an initial vagal effect which disappeared as a consequence of repeated stimulations. In other cases, all cardiac effect was missing, and in such instances, when the intensity of the stimulus was increased, an *inversion* of the effect of the vagal stimulation was often found: cardiac acceleration with slight elevation of the arterial pressure. (Fig. 1, 3.)

The alteration of the cardiac response to the stimulation of the vagus in hyperthyreosis is a *constant finding*, and it has subsequently been observed in all the species we examined (cats, rats, rabbits), appearing in more or less accentuated degree, in accordance with the intensity of hyperthyreosis. In those cases in which there still exists a relatively pronounced cardiac effect, the response is easily extinguished through the action of different factors. (See page 25 and Fig. 1, 2, 3).

It frequently happens that, as a consequence of repeated stimulation of the vagus, in cases in which not the slightest inhibitory cardiac effect is detectable, the pulse pressure increases progressively at the expense of a fall of the diastolic pressure, and finally a decrease of the systolic tension frequently occurs. When these circulatory manifestations appear, it happens rather frequently that a state of peripheral circulatory collapse ensues. In other instances death is produced even more quickly: sometimes, a few moments after the completion of the first inefficacious stimulation, the pressure drops suddenly as a consequence of heart paralysis.

What is the interpretation of this peripheral vascular and heart paralysis produced by the stimulation of the vagus? At the time of these preliminary experiments we already got the impression that these manifestations, provoked by nervous stimulations, could only be attributed *to the liberation of toxic substances which passed into the blood-stream.*

However, before elucidating this problem, it became necessary to investigate the mechanism of the lack of cardiac vagal effect. Is Acetylcholine liberated at the vagal endings in normal, insufficient or excessive

problema suministramos, en los casos de parálisis del vago cardíaco, la *Eserina* (*Experimentos. Serie B*), droga que, como es sabido, inactiva el fermento destructor de la Acetilcolina: la Colinesterasa, y, en varias ocasiones, pudimos constatar que *desaparecía el bloqueo* y se producía un intenso y prolongado efecto vagal cardíaco. (Fig. 1, 2, 3.) Supusimos entonces que, en la hipertireosis, estaría aumentado el poder colinesterásico (observaciones realizadas en pacientes hipertireóticos hablan en este sentido) (10), por lo cual se hizo naturalmente necesario medir la actividad de este fermento: con tal objeto se efectuaron determinaciones en el suero sanguíneo de conejos, gatos y en series de ratas normales e hipertireóticas (*Serie C*), habiéndose también comprobado, para estas últimas, las mismas alteraciones del efecto vago-cardíaco (Fig. 2). Contrariamente a lo esperado, resultó de estas determinaciones que el poder colinesterásico del suero de ratas hipertireóticas es marcadamente menor que en los normales; en las otras especies examinadas (gatos, conejos) esta disminución de la colinesterasa es menos evidente. (El hecho de que el poder colinesterásico del suero esté disminuido no es, naturalmente, decisivo, ya que existe la posibilidad de que, en cambio, esté aumentado en las sinapsis.) Sin embargo, como se verá más adelante, este hallazgo contribuyó a seguir una nueva pista.

Un bloqueo del vago, muy semejante al observado por nosotros en la hipertireosis, es posible obtener en el experimento agudo mediante la administración de un agente farmacológico bien conocido: el *curare* (108), y, en general, se puede decir que el paralelismo de los efectos de este veneno con lo que sucede en la tireotoxicosis es sorprendente, pues el bloqueo vagal desaparece completamente por medio del suministro de *Eserina*, e inclusive se ha descrito, en perros intoxicados en forma aguda con el *curare*, la aceleración cardíaca con elevación de la presión arterial a consecuencia de la estimulación del vago, fenómeno que observamos en animales hipertireóticos (Fig. 1, 3); el efecto del *curare* pudimos comprobarlo más tarde en el gato (Fig. 4).

La presión arterial se modifica, en la curarización, en forma semejante a la observada en la hipertireosis; lo más característico es también el gran descenso de la mínima, lo que indica una disminución intensa del tonus vascular periférico.

En vista de este paralelismo se hizo necesario estudiar el efecto del *curare* sobre el poder colinesterásico del suero. (*Serie D*). A varias especies se extrajo sangre antes y después de la curarización (respiración artificial) pudiéndose constatar que el poder colinesterásico baja considerablemente a consecuencia de la droga. También «in vitro» la adición de *curare* paraliza el poder colinesterásico del suero. Posteriormente hemos encontrado un dato sobre resultados semejantes respecto a la

quantities, or is this transmitter rapidly destroyed by an excess of Cholinesterase at these endings, or does the myocardium become insensible to this transmitter substance? To approach this problem, we selected cases of cardiac vagus paralysis and gave *Eserine*, (*Experiments. Series B*), a drug which, as it is known, inactivates the destructive ferment of Acetylcholine, the Cholinesterase. In several occasions we were able to find that the *blockage disappeared* and an intense and prolonged cardiac vagal effect was produced. (Fig. 1, 2, 3).

We presumed then that, in hyperthyreosis, the cholinesterasic power might be increased. (Observations in hyperthyreotic patients (10), seemed to support this hypothesis), and, therefore, it naturally became necessary to measure the activity of the enzyme. Determinations were carried out in the blood-serum of rabbits, cats and in a series of normal and hyperthyreotic rats (*Series C*). The results of these determinations showed, to our surprise, that the cholinesterasic power of the serum of hyperthyreotic rats is markedly lower than in normal ones; in the other species examined (cats, rabbits) this decrease of cholinesterase is less evident. (On the other hand, the fact that the cholinesterasic power of the serum is diminished is not decisive, since the possibility exists that it may be increased in the synapses.) However, as can be seen later, this finding contributed to a new trail being followed.

It is possible to obtain in the acute experiment a blockage of the vagus, very similar to that observed by us in the hyperthyreosis, by the use of *curare* (108). In our opinion, the effects of this poison and the alterations of neurotransmission in thyrotoxicosis run surprisingly parallel. In both cases the vagal blockage disappears completely when *Eserine* is given, and besides, in dogs acutely intoxicated with *curare*, cardiac acceleration with slight pressure elevation as a consequence of the stimulation of the vagus, has been described, (108) a phenomenon which we also observed in hyperthyreotic animals (Fig. 1, 3). The action of *curare* on the cardiac-vagus effect was verified by us in experiments on cats. (Fig. 4).

The arterial pressure is modified, in curarization, in a similar manner to that observed in hyperthyreosis; it is mostly characterized also by the great drop of the diastolic tension which indicates an intense diminution of the peripheric vascular tonus.

In view of this parallelism, we deemed it of interest to study the effect of *curare* on the cholinesterasic power of the serum. (*Series D*). For this purpose, blood was obtained from various species before and after curarization (artificial respiration) and it was possible to verify that the cholinesterasic power decreases considerably by the action of this drug. Also «in vitro» the addition of *curare* paralyzes the cholinesterasic power of the serum. Subsequently we have found a reference on

acción de este veneno sobre la Colinesterasa sanguínea (Experimentos realizados en el hombre) (75).

A continuación, era naturalmente de sumo interés investigar el comportamiento del *músculo estriado* en la hipertireosis. Cuando formulamos nuestra hipótesis de un posible bloqueo parcial de las sinapsis por la hormona tiroídea, el cual traería consigo la sensibilización de los efectores a los transmisores químicos, figuraba como uno de los puntos básicos de nuestro programa la investigación del comportamiento del músculo esquelético frente a la Acetilcolina, y esperábamos naturalmente encontrar hipersensibilidad, ya que es un hecho muy conocido que el músculo esquelético se sensibiliza enormemente a este transmisor químico a consecuencia de la enervación (véase pág. 10). Por otra parte, como la habíamos encontrado, existía para el caso del vago cardíaco y los fenómenos circulatorios en general, como también para el poder colinesterásico del suero, este *estrecho paralelismo con la acción del curare*. Ahora, los experimentos ya planeados para el músculo esquelético, con inyección intra-arterial de Acetilcolina, debían dar la decisión: si nuestra hipótesis primitiva tenía razón, debíamos encontrar hipersensibilidad del músculo frente a la Acetilcolina: si, en cambio, el paralelismo encontrado por nosotros experimentalmente entre hipertireosis e intoxicación con curare existía también en otros territorios, era de esperar que se presentaría en los animales hipertireóticos una desensibilización del músculo para la Acetilcolina, desensibilización muy conocida en la curarización. (31)

Se desarrolló una técnica nueva de inyección intra-arterial adyacente de Acetilcolina para la rata, animal que es fácil de obtener en condiciones standard y que responde bien a la hormona tiroídea. (*Experimentos. Serie E*).

La serie es integrada por 81 experimentos de los cuales 29 se hicieron en ratas hipertireóticas. Esta preparación (músculo psoas) tiene la ventaja de que su irrigación se mantiene durante todo el experimento en perfectas condiciones debido a que la recibe directamente de un ramo aórtico, de manera que es posible trabajar, aún en el animal decerebrado con presión arterial bastante baja (para eliminar efectos directos que pudiera tener cualquier anestésico sobre la sensibilidad del músculo frente a la Acetilcolina).

El resultado fué completamente decisivo. El músculo esquelético descentralizado de ratas hipertireóticas atropinizadas se *desensibiliza intensamente a la Acetilcolina*, y a veces, no responde en absoluto ni a dosis de 500 gama, mientras que el músculo normal, en nuestra preparación, ya se contrae a dosis que oscilan entre 0,5 y 5 gama. (Fig. 5).

similar results with respect to the action of this poison on the blood cholinesterase in human beings (75).

It was, therefore, of great interest to investigate the behaviour of the *striated muscle* in hyperthyreosis. When we put forward our hypothesis of a possible partial blockage in neurotransmission by the thyroid hormone, which would give rise to increased sensibility of the effectors to the chemical transmitters, the investigation of the behaviour of the skeletal muscle to Acetylcholine was considered as one of the basic points, and we naturally expected to find hypersensitivity, as it is a wellknown fact that the skeletal muscle is greatly sensitized to this chemical transmitter as a consequence of denervation (see page 11). Thus, the response of skeletal muscle, to intra-arterial injection of Acetylcholine, would decide the question: If our original hypothesis was right, we should find hypersensitivity of the skeletal muscle to Acetylcholine; if, on the contrary, the parallelism we had found experimentally between hyperthyreosis and intoxication by curare could be extended to other territories, it was to be expected that hyperthyreotic animals would exhibit, in the same way, an insensitivity of muscles to Acetylcholine, which is well known in curarization (31).

A new technique was developed of adjacent intra-arterial injection of Acetylcholine for the rat, an animal which is easily bred in standard conditions and which responds well to thyroid hormone. (*Experiments. Series E*). This series is made up of 81 experiments of which 29 were made on hyperthyreotic rats. The preparation (psoas muscle) has the advantage that its irrigation is maintained unaltered during the whole course of the experiment owing to the fact that it is received directly from an aortic branch, so that it is possible to carry on working even on pithed animals (to eliminate the direct effects which any anaesthetic might have on the sensibility of the muscle to Acetylcholine) with a fairly low arterial pressure.

The result was absolutely conclusive. The decentralized skeletal muscle of atropinized hyperthyreotic rats becomes *intensely insensitive* to Acetylcholine and, sometimes, does not respond in any way even to a dosis of 500 gama, while the normal muscle, in our preparation contracts to doses oscillating between 0,5 and 5 gama. (Fig. 5.)

Therefore, we consider the myasthenic manifestations of hyperthyreosis as a kind of incomplete «curarization»: we say incomplete because the motility of the animal is not abolished. To investigate whether disturbances really exist in the motor synapses, it appeared to us of inte-

Aprendimos a reconocer, por lo tanto, las manifestaciones miasténicas de la hipertireosis como un estado de «curarización» incompleta: decimos «incompleta» porque la motilidad del animal no está del todo abolida. Para investigar si existen realmente trastornos en las sinapsis motoras, nos pareció de sumo interés determinar la *transmisión neuro-muscular* en los animales hipertireóticos. Para efectuar estos estudios, se dispone de técnicas modernas muy bien elaboradas que permiten sacar conclusiones sobre el estado funcional de las sinapsis en general (135, 99, 100, 34, 132, 133). Así, al estimular eléctricamente un nervio motor, el músculo responde con una contracción más o menos mantenida de acuerdo con la frecuencia de los estímulos aplicados (mientras más alta es la frecuencia tanto menor es la capacidad del músculo para mantener la tensión).

En una serie de experimentos que hicimos en ratas y gatos, estimulamos el ciático y registramos la tensión de los músculos sóleo-gastrocnemio. (*Experimentos. Serie F*). Si resumimos los resultados experimentales, podemos decir que los cambios registrados en la respuesta de la musculatura recuerdan mucho a aquellos descritos por otros autores (133, 100), como también a los observados por nosotros mismos, *en las primeras fases de la degeneración de Waller*. (Después de unas 24 horas de seccionado un nervio motor se observan modificaciones típicas en las respuestas del músculo, modificaciones que se acostumbra interpretar como debidas a trastornos sinápticos. Se observa fatiga (4.º estadio) que se presenta más precozmente y con frecuencia de estimulación más baja que normalmente y la recuperación es mucho más retardada. Con mayor tiempo de degeneración (36 a 48 horas) se observa una *extinción paulatina de las respuestas del músculo frente a estimulaciones indirectas sucesivas con recuperación imperfecta*.) (Fig. 6)

La estimulación, bajo estas mismas condiciones, en el animal hipertireótico, nos muestra alteraciones en las respuestas musculares muy semejantes a las que acabamos de describir, esto es: en todos los animales, tanto en gatos como en ratas hipertireóticos, se presenta mayor *fatiga*, que ya se hace manifiesta con frecuencias bajas de estimulación, fatiga que se manifiesta, en los casos de hipertireosis muy prolongada, en forma de *decremento rápido de la tensión muscular hasta abolición de la respuesta con recuperación muy incompleta*. (Fig. 7, 8).

En vista de que sabíamos (*Experimentos. Serie E*) que el músculo de rata hipertireótica se desensibiliza a la Acetilcolina, desensibilización que se asemeja a la observada en la curarización, estudiamos el efecto de la Eserina en la inhibición neuro-muscular hipertireótica, pero *jamás pudimos registrar un mejoramiento* sino que, por el contrario, la Eserina, aún en dosis muy bajas suministrada por vía endovenosa, *empeora notablemente la neuro-transmisión* en el animal hipertireótico. De manera que, en cuanto al efecto de Eserina, la inhibición neuro-muscular de la hipertireosis presenta mayor similitud con la observada en la dege-

rest to study the neuromuscular transmission in hyperthyreotic animals. In these experiments we used techniques which permit an accurate analysis of the functional state of the synapses (135, 99, 100, 34, 132, 133). It is a well known fact that when the motor nerve is electrically stimulated, the muscle responds with a more or less maintained contraction according to the frequency of the stimulus (the higher the frequency the smaller the capacity of the muscle to maintain the tension).

In a series of experiments carried out on rats and cats, we stimulated the sciatic nerve and registered the tension of the gastrocnemius-soleus-muscles. (*Experiments. Series F*). If we sum up the experimental results, we can say that the changes registered in the responses of the musculature are very similar to those described by other authors (133, 100), as well as to those observed by ourselves, *in the initial phases of the Wallerian degeneration*. (Some 24 hours after a motor nerve has been severed, typical modifications are observed in the response of the muscle, which are usually interpreted as due to synaptic disturbances. Fatigue is observed (4th stage), appearing earlier and with lower frequency of stimulation than normally, and recovery is much more delayed. Allowing a longer time for degeneration (36 to 48 hours) *a gradual extinction of the responses of the muscle to indirect stimulation, with very slow recovery from fatigue*, can be observed. (Fig. 6)

Indirect stimulation in the hyperthyreotic animal show us disturbances in the muscular reactions very similar to those which we have just described, that is: in all animals, as much in hyperthyreotic rats as cats, greater, fatigue is manifested which already appears with stimulation of low frequency: in the cases of very prolonged hyperthyreosis, there can be observed *a rapid decrease in the muscular tension until the response is extinguished exhibiting a very slow recovery from fatigue*. (Fig. 7, 8).

In view of the fact that we knew (*Experiments. Series E*), that the muscle of the hyperthyreotic rat becomes *insensible* to Acetylcholine, insensibility which bears a likeness to that observed in curarization, we studied the effect of Eserine in the hyperthyreotic neuromuscular inhibition, but we were never able *to note an improvement* while, on the contrary, *the neuromuscular transmission becomes notably worse* in hyperthyreotic animals if Eserine is given, even when supplied in very small doses by the intravenous way. Therefore, as regards the effect of Eserine, the neuro-muscular inhibition of hyperthyreosis presents more similarity to that observed in the Wallerian degeneration than to that which is characteristic of curarization. (Nevertheless it has recently been described (110) that when Prostigmine is given, the myasthenic manifestations in the hyperthyreotic patient improve for a short time).

BIBLIOTECA NACIONAL
SECCION CHILENA

Moreover, the stimulation of the sciatic, in the hyperthyreotic animal, produces the same general circulatory disturbances observed as a

neración de Waller que con aquella característica de la curarización. (Ultimamente se ha descrito (110), sin embargo, que el suministro de Prostigmina mejora en forma pasajera las manifestaciones miasténicas en el paciente hipertireótico).

También la estimulación del ciático, en el animal hipertireótico, produce los mismos trastornos circulatorios generales observados a consecuencia de la excitación del vago: *aumento considerable de la presión arterial diferencial*, (Fig. 9), disminución del tonus vascular que puede conducir a la muerte del animal en estado de colapso circulatorio periférico. Este hecho parece apoyar nuevamente nuestra hipótesis que sostiene que en el animal hipertireótico, se libera, a consecuencia de la estimulación de los nervios, una sustancia tóxica que pasa a la circulación. Esta teoría adquiere aún mayor consistencia por el extraordinario fenómeno observado por nosotros en múltiples ocasiones que *en el animal hipertireótico, en el cual se mantiene todavía cierto efecto vago-cardíaco, este efecto se puede extinguir mediante la estimulación de otro nervio*, como por ejemplo el ciático (Fig. 9), y en otros casos, a consecuencia de la estimulación del simpático. (Fig. 10). Este fenómeno lo denominamos «*efecto paralizante humoral de la estimulación nerviosa.*»

En algunos experimentos en ratas hipertireóticas, suministramos pequeñas dosis de curare, dosis que en el animal normal no son paralizantes y pudimos observar una inmediata y total extinción de la neuro-transmisión, otra manifestación que señala el sinergismo tan evidente que existe entre este veneno y la tirotoxicosis.

Una alteración muy semejante a la encontrada por nosotros en el hipertireoidismo se describe para el músculo esquelético que se encuentra bajo la acción del *veneno de cobra*: el músculo no pierde su propiedad de responder a la excitación indirecta, pero eleva enormemente su umbral a la Acetilcolina suministrada por vía intra-arterial (37).

¿Cómo se comportan ahora las sinapsis de un animal hipertireótico frente a venenos de los cuales sabemos que tienen una acción casi selectiva sobre los ganglios, como lo es por ejemplo la *Nicotina*? Nosotros pensamos que tal vez sería posible llegar a bloquear, mediante una infusión endovenosa lenta y continua de Nicotina (*Experimentos. Serie G*), las estructuras que nos habíamos propuesto estudiar: el ganglio simpático cervical superior, los ganglios intracardíacos del vago y los ganglios parasimpáticos situados en el hilio de la glándula submaxilar. En perros, gatos y conejos normales no fué posible obtener el bloqueo de estas sinapsis mediante la infusión lenta de Nicotina: los efectores como la pupila, el corazón y la glándula salival respondían a la excitación presi-

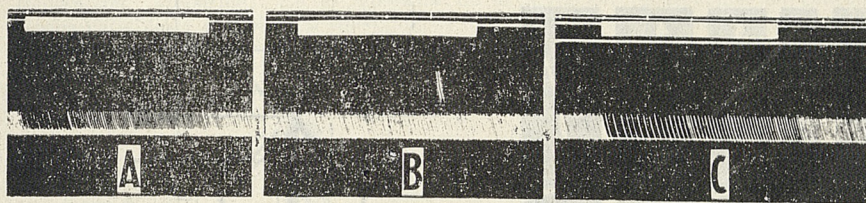


FIG. 4. — Gato normal hembra 1,800 grs. Dial 1,3 cc.

Registro frecuencia cardíaca mediante derivación de potenciales cardíacos con electrodos subcutáneos, uno en tórax y otro en extremidad posterior. Amplificación e inscripción con señal electromagnética. Tiempo 15".

En A estimulación del vago derecho con frecuencia 60 por segundo y 2,5 vólts.

Entre A y B inyección endovenosa de curare (0,4 cc. de una sol. al 0,5% preparado seg. (108).

Obsérvese en B falta de efecto cardíaco durante estimulación vagal con 4 vólts.

Entre B y C se inyecta 0,4 mgrs. de Prostigmina por vía endov.

En C estimulación del vago con 3 vólts

Nótese intenso y prolongado efecto cardíaco.

FIG. 4. — Normal female cat. 1800 grs. 1,3 cc. Dial.

Recording of heart frequency with electromagnetic signal and amplification of heart action potentials. Time 15".

At A, stimulation of right vagus with a frequency of 60/sec. and 2,5 volts.

Between A and B intravenous injection of 0,4 cc. of a 0,5% curare solution prepared according to Mautner (108) . . *

Note in B the lack of response during vagus stimulation with 4 volts.

Between B and C: 0,4 mgrms. prostigmine were injected intravenously.

At C, vagus stimulation with 3 volts.

Note the marked and prolonged cardiac effect.

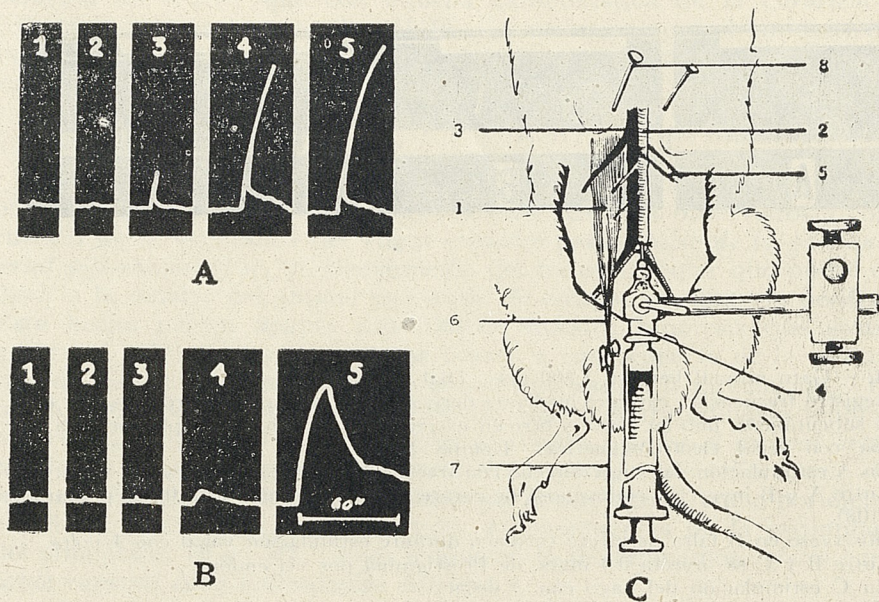


FIG. 5

A

Rata normal macho, 150 grs.
Experimento N.º 59. Serie E.
En 1, 2, 3, 4, 5, efectos sobre músculo psoas de 0,5; 1; 5; 10 y 50 gama de Acetilcolina por vía intra - arterial adyacente.

B

Experimento N.º 72. Serie E.
Respuesta del músculo psoas de rata hipertireótica macho, 205 grs.; tratado durante 39 días con un total de 2,55 mgrs. de tiroxina subcutáneo y 17,6 grs. polvos tiroides por vía bucal distribuidos en 32 dosis separadas. Baja de peso de 14%.
En 1), 2) y 3) inyección intra-arterial de 5, 50 y 500 gama de Acetilcolina y en 4) y 5) acción de KCl en dosis de 0,005 y 0,012 grs. respectivamente.

C

Representación semi-esquemática de la preparación empleada para la inyección intra - arterial adyacente de Acetilcolina en la rata.

- 1) Músculo psoas.
- 2) Aorta con sus ramos musculares para el músculo psoas.
- 3) Vena cava.
- 4) Cánula con llave y jeringa en la aorta.
- 5) Hilo blando pasado entre aorta y cava.
- 6) Tendón del músculo psoas con su inserción en el trocánter menor del fémur.
- 7) Hilo que va a la palanca inscriptora.
- 8) Clavos que fijan la preparación sobre la tabla.

Breve anestesia inicial con éter, respiración artificial, sección de la médula cervical en la porción superior mediante torniquete y destrucción de la médula lumbo-sacra. Atropina endovenosa: 1 gama por gramo de peso.

Se aísla el tendón del músculo psoas y se amarra junto con su inserción ósea a una palanca muscular isotónica.

Una cánula provista de llave se introduce y se amarra en la aorta por encima de su bifurcación. Heparina. En el momento de la inyección (Acetilcolina en concentraciones variables y en volumen constante de 0,05 cc.) se cierra la aorta con una pinza arterial en el punto 5, traccionando el hilo.

FIG. 5.

A

Normal rat (male). 150 grs.

Exp. E - 59.

At 1, 2, 3, 4, 5: responses of psoas muscle to 0,5; 1; 5; 10 and 50 gama of acetylcholine given by adjacent intrarterial injection.

B

Exp. E N.º 72

Response of psoas muscle of hyperthyreotic male rat 205 grs. of weight. Treated with 2,55 mlgrs thyroxine subcutaneously and 17,6 grs. dried thyroid gland per os given in 32 single doses during 39 days; weight loss 14%.

At 1), 2), 3) adjacent intrarterial injection of 5, 50 and 500 gama Acetylcholine. At 4) and 5): 0,005 and 0,012 grs. KCl.

C

Schematic representation of the preparation used for the adjacent intra-arterial injection of Acetylcholine in the rat.

- 1) Psoas muscle.
- 2) Aorta with its branches for the psoas.
- 3) Vena cava.
- 4) Cannula with stop-cock and syringe introduced in the aorta.
- 5) Soft thread placed between aorta and cava.
- 6) Tendon of muscle psoas with its attachment to the upper end of femur (trochanter minor).
- 7) Thread attached to the recording lever.
- 8) Nails which fix the animal on the board.

Brief initial ether anesthesia, artificial breathing, section of the upper spinal cord by tourniquet and destruction of lumbosacral cord.

1 gama atropine intravenously per gram.

The tendon of psoas muscle is freed and tied together with its bone attachment to an isotonic lever.

A cannula with a stop-cock is tied into the aorta above its bifurcation. Heparine is given. At the time that the drug is injected (in a constant volume of 0,05 c.c.) the aorta is clamped at 5 by pulling the thread.

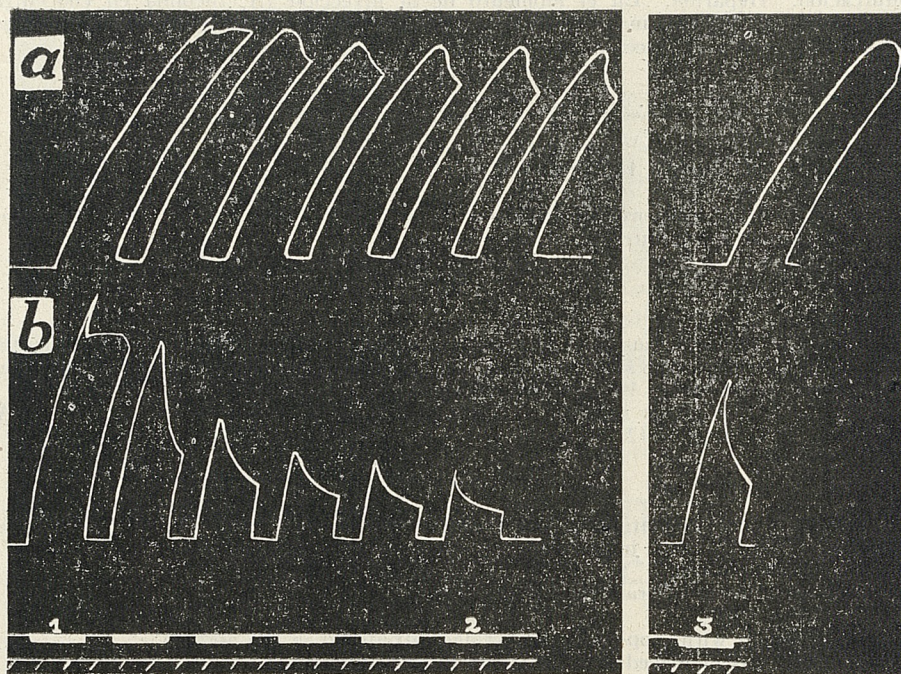


FIG. 6. — *Excitación simultánea indirecta (ciática) de ambos músculos gastrocnemio-sóleo.*
Gato normal, macho 3,650 grs. 22-IX-43. Anestesia Dial. Tiempo c/15". Cí-
atic izq. seccionado 51 horas antes del experimento.

a Respuesta del gastrocnemio-sóleo derecho (normal).

b Respuesta del gastrocnemio-sóleo izquierdo (degeneración Walleriana).

En 1) hasta 2): seis excitaciones del ciático con estímulos máximos de 30" de duración
con intervalos de 15" de reposo. (Frecuencia 29/seg.).

Entre 2) y 3); 5' de reposo.

En 3) recuperación obtenida.

FIG. 6. — *Simultaneous indirect (sciatic) stimulation of both gastrocnemius-soleus muscles.*
Normal male cat 3650 grs. Dial. Time 15". The left sciatic nerve was severed
51 hours before the present experiment.

a) Response of the right gastrocnemius-soleus muscle (normal).

b) Response of the left gastrocnemius-soleus muscle (severed).

From 1) to 2): six successive stimulations of the sciatic (supramaximal intensity, fre-
quency 29 "/> duration of stimulations=30" intervals=15".

Between 2) and 3): 5 minutes of rest.

3) shows the recuperation of the muscle.

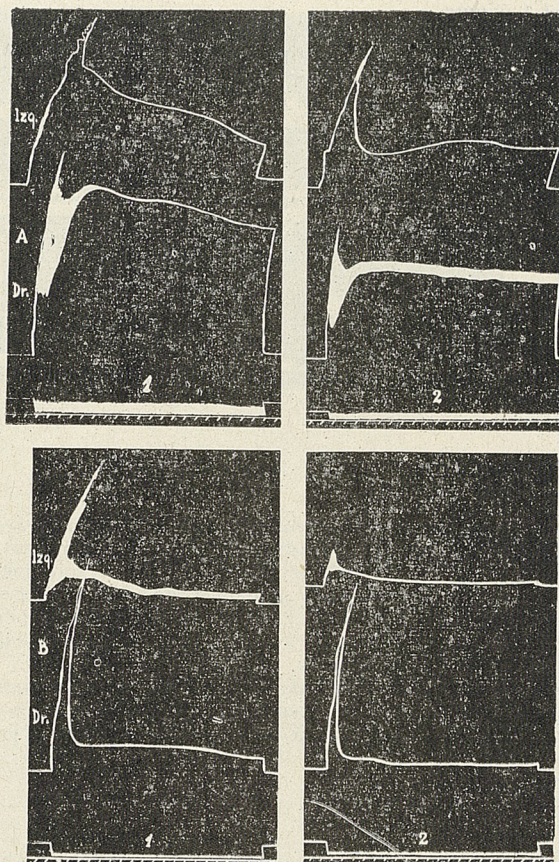


FIG. 7. — Efecto de la estimulación indirecta (ciático) en la tensión del gastrocnemio-sóleo en gatos normales e hipertireóticos.

A: Animal normal, macho 3050 grs. Anestesia Dial. 4-VIII-43. Tiempo c/15"

Izq.: Estimulación frecuencia 50/seg.

Dr.: Estimulación frecuencia 13/seg.

Entre 1 y 2, seis estimulaciones de 5' de duración con intervalos de 1' de reposo.

B: Animal macho 2,200 grs. hipertireótico. Anestesia Dial. 9-VIII-43. Tiempo c/15".

Izq.: Estimulación 13 períodos.

Dr.: Estimulación 50 períodos.

Entre 1 y 2, seis estimulaciones de 5' de duración con intervalos de 1' de reposo.

BIBLIOTECA NACIONAL
SECCION CHILENA

FIG. 7. — Effect of indirect (sciatic) stimulation on the tension of gastrocnemius-soleus muscles of normal and hyperthyroid cats.

A. Normal male animal, 3050 grs. Dial.

Izq.: Response of the left side to stimulations with frequency 50/sec.

Dr.: Response of the right side to stimulations with frequency 13/sec.

Between 1 and 2 there have been applied six stimulations each of 5 minutes duration with intervals of 1 minute.

B. Hyperthyreotic male cat, 2200 grs. Dial.

Izq.: Response of the left side to stimulations with frequency 13/sec.

Dr.: Response of the right side to stimulations with frequency 50/sec.

Between 1 and 2, six stimulations as in A.

Supramaximal intensity. Time 15".

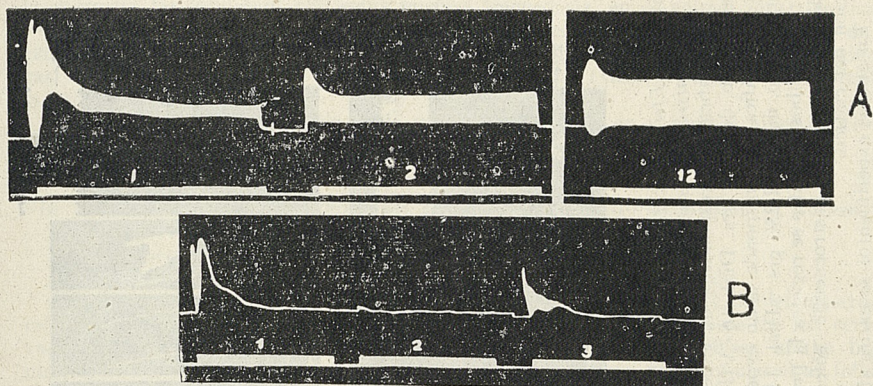


FIG. 8. — *Fatiga neuromuscular en ratas normales e hipertireóicas*

Registro de la tensión del músculo gastrocnemio - sóleo a la estimulación del ciático con intensidad supramaximal y frecuencia de 13/seg.

Gráfica A, corresponde a un animal normal, macho de 346 grs. de peso.

Anestesia: Nembutal 2,4 centigramos. 1) y 2): efecto de la estimulación, durante 5 minutos con un minuto de intervalo. 12) el efecto después de nueve períodos de estimulación entre 2) y 12).

Gráfica B, corresponde a un animal hipertireótico N.º 172, macho, 150 grs. de peso, tratado durante dos meses con polvo de tiroides seco per os. Nembutal 0,4 cgrs. Entre 1) y 2) estimulación como en A; entre 2) y 3), 30 minutos de reposo.

FIG. 8. — *Neuromuscular fatigue in normal and hyperthyreotic rats.*

Tracing of the gastrocnemius-scleus tension to stimulations of the sciatic nerve (supramaximal intensity and frequency 13/sec.).

A. Normal male rat, 346 grs.; Nembutal, 0,024.

1) and 2): two successive five minute's stimulations of the sciatic nerve with one minute's interval.

12): the last response of a series of nine stimulations applied between 2 and 12.

B. Hyperthyreotic male rat (N.º 172) 150 grs., treated during 2 months with dried thyroid gland per os. Nembutal, 0,004.

1) and 2) stimulations as in A.

Between 2 and 3 there were 30 minutes of rest.

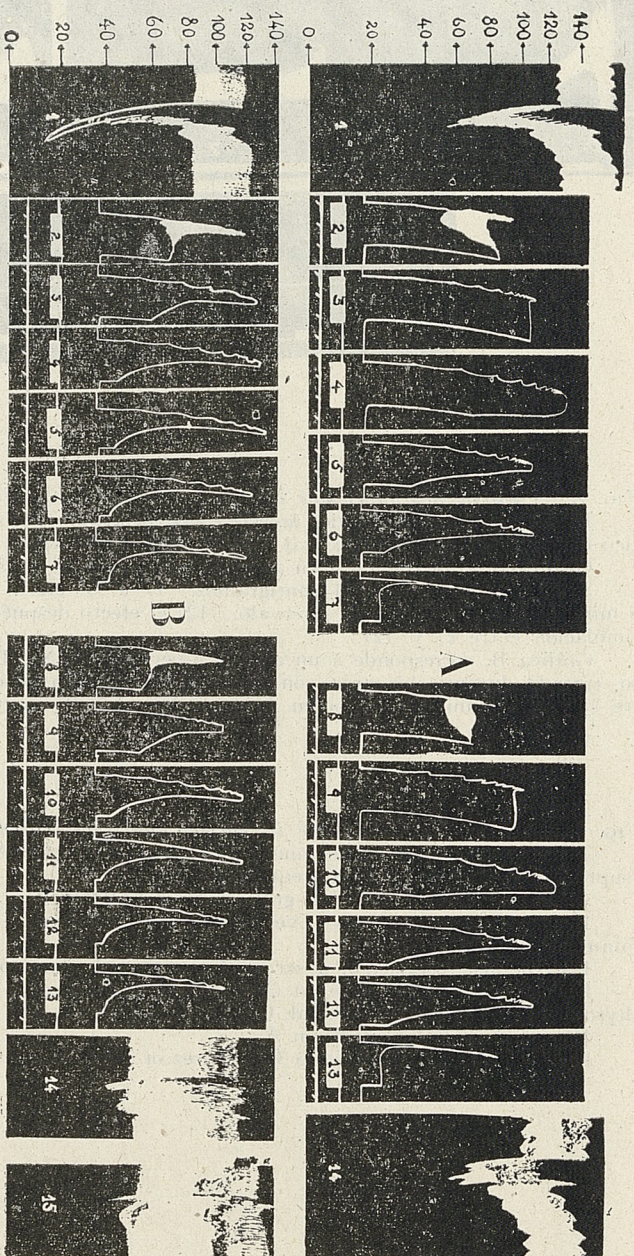


Fig. 9. — Efecto que tiene la estimulación del ciático sobre la transmisión vago-cardíaca en gatos normales e hipertensivos. La gráfica A corresponde a un experimento en un gato normal, macho, de 3,900 grs. Dial. 16 - VII - 43.

La gráfica B corresponde a un experimento en un gato hipertensivo, macho, 2,250 grs. Dial. 14 - VII - 43.

En ambos animales se registra la presión arterial en la carótida y la tensión del gastrocnemio - sólo izquierdo a la estimulación del ciático.

En ambos experimentos se excita al principio (en 1) el vago cervical izquierdo con intensidad supramáxima y frecuencia 60/seg.

Inmediatamente después de la estimulación del vago se excita repetidamente el ciático izquierdo en la siguiente forma:

En 2), 3), 4), 5), 6) y 7) con frecuencias 13, 29, 60, 128, 256 y 460 respectivamente. (Intensidad supramáxima). Entre 7) y 8): 5 minutos de reposo.

En 8), 9), 10), 11), 12) y 13) igual serie de estimulaciones como en 2) hasta 7).

Inmediatamente después de 13) se estimula el vago como en 1). En el animal hipertensivo se repite esta estimulación (en 15), con mayor intensidad y después de haber corrido el electrodo a un punto más periférico.

Nótese: 1.º El buen mantenimiento de la tensión muscular.

lar en el animal normal, especialmente con las estimulaciones de frecuencias bajas y la marcada fatigabilidad, con estas mismas frecuencias, en el animal hipertireótico.

2.º La insignificante disminución de la respuesta vago-cardíaca, después de las estimulaciones del ciático, en el animal normal. En cambio, se observa una extinción casi completa de este efecto en el animal hipertireótico («Efecto paralizante humoral de la estimulación nerviosa»).

3.º Aumento considerable de la presión diferencial, en el animal hipertireótico, a consecuencia de la estimulación del ciático.

FIG. 9. — *Effect of sciatic stimulation upon the vagus-heart-transmission in normal and hyperthyreotic cats.*

A. Experiment on a normal male cat, 3900 grs. Dial.

B. Experiment on a hyperthyreotic male cat, 2250 grs. Dial.

In both animals the arterial (carotis) pressure and the tension of the left gastrocnemius-soleus muscles to sciatic stimulation were recorded. In both cases the left cervical vagus was stimulated with supramaximal intensity and frequency 60/sec. at the beginning of the experiment. Subsequently the left sciatic nerve was stimulated as follows:

At 2), 3), 4), 5), 6) and 7) with frequencies 13, 29, 60, 128, 256 and 460/sec. respectively.

Between 7) and 8) there were 5 minutes of rest.

At 8), 9), 10), 11), 12) and 13) same series of stimulations as at 2) to 7).

Immediately after 13) the vagus nerve was stimulated (as at 1). In the case of the hyperthyreotic cat this vagus stimulation was repeated (at 15) with higher intensity and after shifting the electrode peripherically.

Note: 1.º The maintainance of the muscle tension in the normal animal, specially with low frequency stimulations and marked fatigability at these frequencies in the hyperthyreotic cat.

2.º Only a very slight decrease of the heart vagus-response after the series of sciatic stimulations in the normal animal and a nearly complete extinction of this response in the hyperthyreotic cat («humoral paralysing effect of nervous stimulation»).

3. Marked increase of the pulse pressure in the hyperthyreotic animal as a consequence of nervous stimulation.

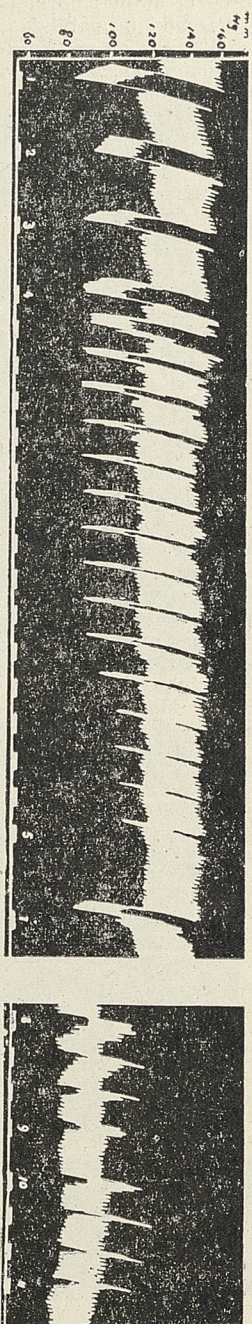


Fig. 10. — Gato hipertireóidico hembra, 28-VI-43. Dial 1 c. c. Peso 2,150 grs. Recibió 48 mgrs. de tiroxina durante 37 días, con baja de peso de 17%.

Estimulación del vago derecho durante períodos de 15 seg.; registro de presión arterial.

1) Estimulación con frecuencia 29/seg. e intensidad de 2 volts.

2) Estimulación con frecuencia 60/seg.

3) Estimulación con frecuencia 60/seg. 3 volts.

Desde 4) hasta 5) repetidas estimulaciones con frecuencia 60/seg. e intensidad de 2 volts con intervalos de 15 seg.

7) Estimulación igual después de 60 seg. de intervalo.

Entre 7) y 8) estimulación del simpático cervical derecho con frecuencia de 29/seg. con intensidad supramáxima durante 25 minutos.

En 8) estimulación del vago derecho con la misma intensidad y frecuencia anterior.

Entre 8) y 9) cuatro estimulaciones del mismo vago con intensidad y frecuencia anterior.

Entre 10) y 11) se corre el electrodo a un punto más periférico y se estimula en igual forma.

Nótese: la inversión del efecto vago-cardíaco a consecuencia de la estimulación del simpático. («Efecto paralizante humoral de la estimulación nerviosa».)

Fig. 10. — *Hyperthyreotic female cat, 2150 grs. Dial, 1.0 cc.* Treated during 37 days with thyroxine (48 mgrs). Weight loss 17%.

Stimulations of right cervical vagus during 15" periods. Record of the arterial pressure.

1) Stimulation with frequency 29/sec. and 2 volts intensity.

2) Stimulation with frequency 60/sec.

3) Stimulation with frequency 60/sec. and 3 volts intensity.

From 4) to 5): repeated stimulations with frequency 60/sec. and 2 volts intensity; with 15" rest.

7) Stimulation with the same intensity and frequency after a 60" rest.

Between 7) and 8): stimulation of the right cervical sympathetic with frequency 29/sec. and supramaximal intensity during 25 minutes.

At 8) stimulation of the right vagus as in 7).

Between 8) and 9) four stimulations of the same vagus as before.

Note: The inversion of the heart vagus effect as a consequence of sympathetic stimulation («humoral paralyzing effect of nervous stimulation»).

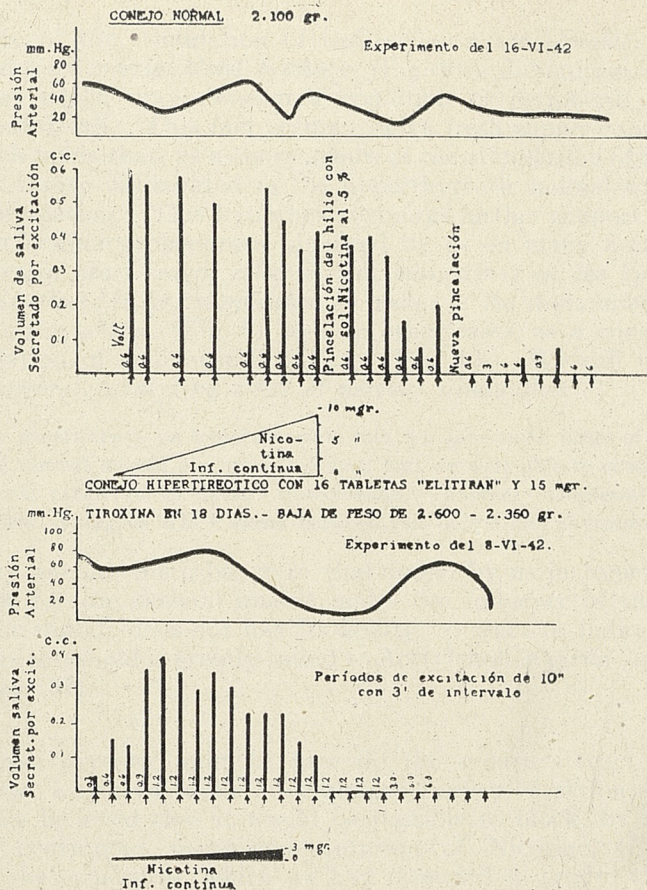


FIG. 11. — Efecto de la nicotina sobre la transmisión cuerda del tímpano-glándula submaxilar en conejos normales e hipertireóticos.

En ambos animales se estimula, con intensidad supramaximal y con frecuencia 50/seg., la cuerda del tímpano durante períodos de 10 seg. con tres minutos de intervalo (la intensidad se encuentra anotada sobre la abscisa). La secreción de la glándula se recoge en el conducto canulado y se mide en una pipeta de 1 cc., graduada en 1/100, colocada horizontalmente y conectada con dicha cánula. La nicotina en solución al 1/1000 se infunde por la yugular, y las cantidades suministradas se encuentran representadas en la base. Se registró la presión arterial cuyas variaciones se encuentran representadas en la gráfica.

FIG. 11. — Effect of nicotine on the transmission chorda tympani-submaxilar gland in normal and hyperthyreotic rabbits.

In both animals the chorda tympani was stimulated during periods of 10 sec. with supramaximal intensity and frequency 50/sec. Between each stimulation 3 minutes rest.

The intensity is inscribed on the abscissa.

The secretion of the gland is collected by a cannula inserted in the duct and measured with a 1 cc. pipette graduated in 1/100, in horizontal position.

Nicotine in a sol. 1/1000 is injected slowly and continuously in the jugular vein. The injected amounts are represented graphically on the base line.

The upper tracing represents the fluctuations of the arterial pressure.

consequence of the stimulation of the vagus: a considerable increase of the «differential» arterial blood pressure, (Fig. 9) a diminution of the vascular tonus which may develop a condition of peripheric circulatory collapse and death. This fact seems to give fresh support to our hypothesis which holds that, as a consequence of the stimulation of the nerves, a toxic substance is liberated in the hyperthyreotic animal which passes into the circulation. This hypothesis acquires further support as a result of the extraordinary phenomenon observed by us on many occasions that *where a certain heart-vagus effect is still maintained in the hyperthyreotic animal, this effect can be extinguished by means of the stimulation of another nerve, e. g., the sciatic, (Fig. 9) and, in other cases, as a consequence of the stimulation of sympathetic fibres. (Fig. 10.)* We call this phenomenon «*humoral paralyzing effect of nervous stimulation*».

In some experiments, on hyperthyreotic rats, we gave small doses of curare, doses which in the normal animal are not paralyzing, and we were able to observe an immediate and total extinction of neuro-transmission, — another manifestation pointing out the evident synergism which exists between this poison and thyrotoxicosis.

A very similar disturbance to that found by us in hyperthyroidism is described for the skeletal muscle under the influence of snake venom (cobra): the muscle does not lose its ability to react to indirect stimulation, but its threshold is greatly raised to Acetylcholine given by the intra-arterial way (37).

In hyperthyreotic animals, how do the synapses react to poisons like Nicotine, which we know have almost a selective action on the ganglions? We believed that it would be possible to block, by means of a slow and continuous intravenous infusion of Nicotine, (*Experiments. Series G*), the structures which we had intended to study: the superior cervical sympathetic ganglion, the intracardiac vagus-ganglia and the parasympathetic ganglia situated in the submaxillary gland hylus. It was not possible to obtain a blockage of these synapses in normal dogs and rabbits by a slow infusion of Nicotine: the effector organs such as the pupil, the heart, and the salivary glands reacted, in some cases, to the presynaptic stimulation of their respective nerves, even after the arterial pressure had fallen to zero, under the action of Nicotine. Matters appeared very different in animals envenomed with thyroid hormone: with relatively small doses of Nicotine, even before a decrease in the arterial pressure was produced, the vagal effect (if it existed) was first eliminated, then the pupillary reaction and finally the most resistant structure was paralyzed, i. e., the synapses of the chorda tympani. (Fig. 11).

The experimental proof of the existence of synergisms between the thyroid toxicosis and the action of certain neurotropic poisons is of fundamental

náptica de sus nervios respectivos, en algunos casos, aún después de que la presión arterial había bajado a cero por la acción de la Nicotina. En forma muy distinta se presentaban las cosas en animales intoxicados con la hormona tiroídea: ya con dosis relativamente bajas de Nicotina y antes de producirse el descenso de la presión arterial, se suprimía primero el efecto vagal (si existía), después la respuesta pupilar y finalmente se paralizaba la estructura más resistente: las sinapsis de la cuerda del tímpano. (Fig. 11).

Es para nosotros de fundamental importancia la constatación experimental de la existencia de sinergismos entre la toxicosis tiroídea y la acción de ciertos venenos neurotropos, sinergismos que indican, quizás, que estos factores actúan sobre mecanismos metabólicos semejantes. Pero con esta constatación no se resuelve el problema de los procesos más íntimos que entran en juego bajo la acción de la hormona tiroídea. No sabíamos cuál es la causa inmediata de los trastornos nerviosos y por qué el efector no responde en forma normal a la excitación indirecta.

Como ya hemos expresado más arriba, nos planteamos los siguientes problemas: ¿Se debe la falla de la neurotransmisión en la hipertireosis a una insuficiente liberación del transmisor químico, o es que el órgano efector se ha hecho insensible a esta sustancia?

Ya que habíamos encontrado las mayores alteraciones en el vago cardíaco, tratamos de detectar en este sistema si hay o no entrega de Acetilcolina durante la estimulación vaga¹. Si hubiéramos podido demostrar una liberación insuficiente de este transmisor, entonces habríamos tenido base para suponer que las fibras cardíacas del vago se encontrarían *degeneradas* en el animal hipertireótico. (Es bien sabido que en el nervio en degeneración disminuye la formación y entrega de Acetilcolina.) (100). Tratamos de encontrar entonces un indicador que fuera suficientemente sensible para detectar, en el mismo animal, si existe o no liberación de Acetilcolina durante la estimulación del vago o de otros nervios.

Recordamos los trabajos del oftalmólogo inglés Duke-Elder (45, 46, 38), quien encontró que los músculos extrínsecos del ojo se comportan en una forma muy particular. De todos los músculos esqueléticos de mamífero, éstos son los únicos que se contraen con pequeñas dosis de Acetilcolina suministrada en forma endovenosa, sensibilidad que tienen en común con los músculos enervados de mamíferos y con los músculos esqueléticos de los batracios.

Esperábamos que esta musculatura podría servir de detector para la Acetilcolina liberada durante la excitación de los nervios.

Resumiendo con la mayor brevedad posible los resultados de estos experimentos (*Serie H*) realizados en gatos normales e hipertireóticos, constatamos lo siguiente: en 17 gatos normales pudimos observar que el músculo recto superior del ojo es muy sensible a la Acetilcolina suminis-

importance to us, such synergisms indicating, perhaps, that these factors act on similar metabolic mechanisms. However, this statement does not solve the problem of the innermost processes which come into play under the action of the thyroid hormone. We did not know the immediate cause of the nervous disturbances and why the effector did not react in a normal way to indirect stimulation.

As already pointed out above, we set ourselves the following problems: Is the deficiency of the neurotransmission in hyperthyreosis due to an insufficient liberation of the chemical transmitter, or is it that the effector organ has become insensible to this substance?

Since we had found the greatest disturbances in the cardiac vagus, we tried to detect whether there is or there is not any Acetylcholine liberation in this system during the vagal stimulation. If we could have shown an insufficient liberation of this transmitter, there would have been a basis to suppose that the cardiac fibres of the vagus were «degenerated» in the hyperthyreotic animal. (It is wellknown that in the degenerated nerve the formation and liberation of Acetylcholine diminishes.) (100). We then tried to find an indicator sufficiently sensitive to detect, in the same animal, whether Acetylcholine is liberated during the stimulation of the vagus or of other nerves.

We recalled the experiments of Duke - Elder, (45, 46, 38), who found that the extrinsic muscles of the eye behave in a very special way: of all the skeletal muscles of mammals, these are the only ones which contract with small doses of Acetylcholine given intravenously, a sensibility which they have in common with the denervated muscles of warm blooded animals and the skeletal muscles of batrachia.

We hoped that this musculature might serve as a detector for the Acetylcholine liberated during the stimulation of the nerves.

Summing up briefly the results of these experiments (*Series II*), carried out on normal and hyperthyreotic cats, we will record that in 17 normal animals we were able to observe that the rectus superior muscle of the eye is very sensitive to Acetylcholine given intravenously (threshold 500 - 1000 gama) or intra - arterially (threshold 5 - 30 gama). Contrary to Duke - Elder's results for this muscle «in vitro», we have found that an intra - venous injection of Prostigmine renders this structure highly sensitive to Acetylcholine (from 100 to 300 times). In spite of this great sensitiveness, *it was not great enough to show in the normal cat, the liberation of Acetylcholine as a consequence of the stimulation of the vagus* (or other nerves) even after the circulation was reduced (ligature of the thoracic aorta and inferior cava).

In comparison with normal animals, the rectus superior muscle of the eye in hyperthyreotic cats shows a slight increase of sensitivity to Acetylcholine. But the sensibilization produced with Prostigmine is much greater in the hyperthyreotic animal (up to 3,000 times).

In 6 out of 11 hyperthyreotic cats we observed an extraordinary

BIBLIOTECA NACIONAL
SECCION CHILENA

trada por vía endovenosa (umbral 500-1000 gama) o intra-arterial (umbral 5-30 gama). Contrariamente a lo descrito por Duke - Elder para el músculo «in vitro», hemos encontrado que esta estructura se sensibiliza notablemente—de 10 a 300 veces—en el animal total con la administración endovenosa de Prostigmina. A pesar de la gran sensibilización, *ésta no alcanza para demostrar, en el gato normal, la liberación de Acetilcolina a consecuencia de la estimulación del vago* (u otros nervios), ni aún después de reducir la circulación (ligadura de la aorta torácica y cava inferior).

En los animales tratados con la hormona tiroídea, el músculo recto superior del ojo muestra un ligero aumento de sensibilidad frente a la Acetilcolina comparado con los normales. Pero la sensibilización producida por la Prostigmina es mucho mayor en el animal hipertireóptico (*hasta 3,000 veces*).

En 6 de los 11 gatos hipertireóticos observamos un fenómeno extraordinario: En la preparación con circulación reducida, *el músculo recto superior entraba, pocos instantes después del término de la excitación de los nervios* (vago o simpático), *en un estado de contractura* que no tiene nada en común con la típica contracción corta producida por la inyección endovenosa o intra-arterial de Acetilcolina. (Fig. 12, 13). Estos experimentos no contribuyeron a esclarecer el problema de la liberación de Acetilcolina en el nervio hipertireótico, pero se nos hizo nuevamente evidente que, a consecuencia de la excitación de los nervios, se libera en el animal hipertireótico una sustancia activa que determina efectos generales por vía humoral (*).

(*) Pensamos que posiblemente este agente se encontraría preformado en el nervio hipertireótico y que, a consecuencia de la excitación, sería descargado en gran cantidad a la circulación. Por eso nos pareció indicado tratar de detectar este factor en el nervio mismo (*Experimentos. Serie I*), y elegimos como indicador un órgano que tiene cierta semejanza, en su comportamiento «in vitro», con los músculos extrínsecos del ojo: el músculo recto del abdomen del sapo (*Bufo Chilensis* Gay), preparación que debido a su fácil manejo se presta para experimentos en series. Los nervios periféricos provenientes de ratas y gatos normales e hipertireóticos se trituraron con arena de cuarzo y se extrajeron con solución de Ringer (en proporción 1 : 10). A una mitad de cada uno de estos extractos se adicionó Eserina, dejándose la otra en reposo durante por lo menos 5 horas y en ausencia de Eserina, ya que, en estas condiciones, se destruye la totalidad de la Acetilcolina en el nervio (98). Para los nervios normales pudimos comprobar que realmente los extractos son absolutamente inactivos después de este tiempo; en cambio los provenientes de animales hipertireóticos contienen, generalmente, una sustancia que contrae el músculo recto del abdomen del sapo (colina?). En algunos casos ambas fracciones del extracto de nervios hipertireóticos presentaban la misma actividad, y, en otros, los extractos eserinizados producían mayor contracción que los no eserinizados. Las contracciones comparadas con las obtenidas con la Acetilcolina daban valores muy semejantes a los de los nervios normales; aun tratándose de vagos cuya estimulación «in situ» no había producido efecto cardíaco. No hemos practicado todavía determinaciones de colinesterasa en el nervio, y tampoco hemos identificado como Acetilcolina a la sustancia que contrae el músculo recto abdominal; de manera que esta serie de experimentos no se puede dar por terminada, ya que faltan estos puntos por aclarar.

phenomenon: In the preparation with reduced circulation, a few moments after the stimulation of the nerves (*vagus* or *sympathetic*) had ended, the *rectus superior muscle* entered into a state of *contracture* which has nothing in common with the typical short contraction produced by the intravenous or intra-arterial injection of Acetylcholine (Fig. 12, 13). These experiments did not contribute to elucidate the problem of the liberation of Acetylcholine in the hyperthyreotic nerve, but it became freshly evident that, as a consequence of the stimulation of the nerves, an active substance is liberated in the hyperthyreotic animal which determines general effects by the humoral way. (*)

This series of experiments, intended to find out whether liberation of Acetylcholine exists during the stimulation of the *vagus*, in hyperthyreotic animals, did not prove successful in this respect. Therefore, we hoped to partially elucidate the lack of heart - *vagus* effect by studying the behaviour of the isolated hyperthyreotic heart to Acetylcholine, and in these experiments (*Series J*) we found very suggestive results.

A study was made on *isolated hearts* (Langendorff - technique), taken from normal and hyperthyreotic cats. From previous experiments carried out in this Institute we had become convinced of the existence of cardiac intramural sympathetic ganglionic formations, taking as a basis the observation that the administration of Acetylcholine in the atropinized heart has a similar effect to that of Adrenaline (Fig. 14) (positive ino and cronotrope action with dilatation of the coronaries) a sympathetic effect which is suppressed both by Nicotine and Ergotamine (11, 146 a).

(*) We thought that possibly this agent was to be found preformed in the hyperthyreotic nerve and that, as a consequence of stimulation, it might be discharged in great quantity into the circulation. Therefore, it seemed obvious to try to detect this factor in the nerve itself, and we chose as indicator an organ which has a certain resemblance, in its behaviour «in vitro», to the extrinsic muscles of the eye: the *rectus abdominis* of the toad (*Bufo Chilensis*, Gay). (*Experiments. Series I*), preparation which due to its easy handling lends itself to experiments in series. The peripheral nerves taken from normal and hyperthyreotic rats and cats were triturated with quartz sand and extracted with Ringer solution (in a proportion of 1 : 10). Eserine was added to half of each of these extracts, the remaining, without eserine, being allowed to stand for at least 5 hours, since, under these conditions, all Acetylcholine in the nerve is destroyed (98). We were able to prove for normal nerves that really the extracts are completely inactive after this time; on the other hand, those taken from hyperthyreotic animals contain, generally, a substance which contracts the *rectus abdominis* of the toad (choline?). In some cases both fractions of the extract from hyperthyreotic nerves presented the same activity, and in others, the eserinated extracts, produced a greater contraction than those not eserinated. The contractions compared with those obtained with Acetylcholine gave results very similar to those of normal nerves; even when dealing with the *vagus*, the stimulation of which «in situ» had not produced cardiac effect. We have not yet carried out determinations of cholinesterase activity in the nerve, nor have we identified as Acetylcholine the substance which contracts the *rectus abdominis*; and, therefore, this series of experiments cannot be considered as closed until these points have been cleared up.

Los experimentos de esta serie, en la cual tratamos de resolver la cuestión de si existe o no liberación de Acetilcolina en el gato hipertireótico durante la excitación del vago, no nos proporcionaron, a este respecto, una respuesta. Esperábamos poder esclarecer parcialmente el problema de la falta del efecto vago-cardíaco estudiando el comportamiento del corazón hipertireótico aislado frente a la Acetilcolina, y en estos experimentos (*Serie J*) nos encontramos con resultados muy sugestivos.

Fueron estudiados los *corazones aislados* según Langendorff provenientes de gatos normales e hipertireóticos. En experimentos anteriores realizados en este Instituto nos habíamos convencido de la existencia de formaciones ganglionares simpáticas intramurales cardíacas, basándonos sobre la observación de que el suministro de Acetilcolina en el corazón atropinizado tiene un efecto semejante al de la Adrenalina (Fig. 14), (acción ino y cronotrópica positiva con dilatación de las coronarias), efecto simpático que es suprimido tanto por la Nicotina como por la Ergotamina (11,146a).

El corazón del gato hipertireótico reacciona a la Acetilcolina como un órgano atropinizado, esto es: la acción «muscarínica» de la Acetilcolina desaparece parcial o totalmente según el grado y la duración de la hipertireosis. Pero aún más característico es el efecto «nicotínico» de la Acetilcolina sobre las formaciones ganglionares simpáticas intracardíacas que se manifiesta intensamente y con dosis muy pequeñas. (Sensibilización al efecto nicotínico de la Acetilcolina). En algunos casos se observa una especie de «competencia» entre efectos «muscarínico» y «nicotínico» de la Acetilcolina (Fig. 15-A), mientras que en los corazones de animales tratados intensamente y durante períodos prolongados con hormona tiroidea, prevalece claramente el efecto «nicotínico» (Fig. 15-B).

Debemos considerar como un hecho bien establecido la constatación experimental de la existencia en el animal hipertireótico de una profunda alteración en los mecanismos de neurotransmisión. Tenemos evidencias de que la fibra nerviosa misma se hace más frágil en la tireotoxicosis. Así se observa con frecuencia un estado de excitabilidad disminuida en el punto de la aplicación de los electrodos («stimulation fatigue») (68,47), que se presenta muy raramente en el animal normal. También tenemos la experiencia de que es necesario preparar los nervios de los animales hipertireóticos procediendo con la mayor cautela, pues la más mínima tracción o compresión interrumpe en ellos la conducción.

Esta extrema fragilidad tiene su comprobación objetiva en experimentos en los cuales hemos derivado los potenciales de acción de nervios aislados provenientes de gatos y conejos (*Serie K*) y hemos podido constatar (mediante un dispositivo que permite comprimir el nervio en un punto situado entre los electrodos de estimulación y el que deriva los potenciales de acción) que una compresión relativamente baja del nervio

The heart of the hyperthyreotic cat reacts to Acetylcholine as an atropinized organ, that is: the «muscarinic» action of the Acetylcholine disappears totally or partially in accordance with the duration of hyperthyreosis. However, even more characteristic is the «nicotinic» effect of Acetylcholine on the intracardiac sympathetic ganglionic formations, which is manifested to a high degree and with very small doses. (Sensibilization to the nicotinic effect of Acetylcholine). In some cases a kind of «competition» is observed between the «muscarinic» and «nicotinic» effects of Acetylcholine (Fig. 15 a), while in the hearts of animals treated with thyroid hormone to an intense degree and during prolonged periods, the «nicotinic» effect is clearly predominant (Fig. 15 b.).

That in hyperthyreotic animals do exist intense disturbances, in neurotransmission, is an established fact. We possess evidence that in thyrotoxicosis the nervous fibre becomes more fragile. Thus a state of diminished excitability is frequently observed at the point of application of the electrodes («stimulation fatigue») (68, 47) which rarely appears in the normal animal. We have also learnt through experience that it is necessary to take the greatest care while preparing the nerves of hyperthyreotic animals, since the nervous conduction may be interrupted by the slightest tension or compression.

This extreme fragility has its objective proof in experiments in which we have recorded the action potentials of isolated nerves taken from cats and rabbits (*Series K*). Using a device which permits the compression of the nerve at a point lying between the stimulation electrodes and those which derive the action potentials, we have observed that a relatively low compression of the hyperthyreotic nerve causes a complete interruption of the transmission, while normal nerves are extremely resistant, requiring a much greater compression to obtain blockage.

The labilization of the synapses, which at the beginning of our experiments we interpreted as being the most distinctive manifestation of hyperthyreoidism, at present we consider only as one of the manifestations of the intense disturbance of the whole nervous system.

From all the anomalies observed during the abovementioned experiments, we consider the following phenomenon, appearing in intensely hyperthyreotic animals, as the most illustrative and characteristic: *the gradual decrease in the response of the effectors, until the complete disappearance of the effect, as a consequence of successive stimulations.*

A similar gradual decrement of the response of the organs as a consequence of indirect stimulation has been observed, as mentioned previously, in the response of the skeletal muscle, during the first phases of

hipertireótico es suficiente para interrumpir completamente la conducción, mientras que los nervios normales son extremadamente resistentes; ya que se requiere de una compresión mucho mayor para obtener el bloqueo.

La labilización de las sinapsis, que al principio de nuestra experimentación interpretábamos como la manifestación más sobresaliente del hipertireoidismo, la consideramos actualmente sólo como una de las manifestaciones de la profunda alteración de todo el aparato nervioso.

De todas las anomalías observadas en los experimentos mencionados, consideramos como el más característico e ilustrativo el siguiente fenómeno que se presenta en animales profundamente hipertireóticos: *el decremento paulatino de las respuestas de los efectores, hasta la completa desaparición del efecto, a consecuencia de excitaciones indirectas sucesivas.*

Una semejante extinción paulatina de las respuestas de los órganos a consecuencia de estimulación indirecta se ha observado, como ya lo hemos mencionado, en la respuesta del músculo esquelético, en las primeras fases de la degeneración de Waller. Pero también se conoce un fenómeno similar a éste en los efectores simpáticos. Ya en el año 1904 Elliot (48) había descrito que el simpático de gatos *suprarrenalectomizados* moribundos presenta esta alteración, y sólo 34 años después el fisiólogo inglés Secker (140) reanudó estos experimentos e hizo la extraordinaria constatación de que *a consecuencia de la extirpación de las glándulas suprarrenales, después de media hora o poco más de la operación, se va extinguiendo paulatina e irreversiblemente la respuesta de los dos efectores simpáticos* estudiados por él: la membrana nictitante y el intestino delgado, al estimular repetidamente las fibras simpáticas correspondientes, y que es posible hacer reaparecer las respuestas mediante la administración de la *hormona córtico-suprarrenal*. El autor interpreta estos resultados en el sentido de que, en las fibras terminales del simpático, se agotaría una sustancia precursora del transmisor simpático, sustancia que sería suministrada por las hormonas de la corteza suprarrenal, teoría que nos parece poco probable a la luz de nuestros resultados experimentales.

Por otra parte, los numerosos trabajos modernos de Swingle y sus colaboradores (146) demuestran que en animales adrenalectomizados es más fácil producir el shock irreversible, sea éste traumático o por quemadura, que en los normales. La administración de hormona córtico-suprarrenal normaliza en este sentido a los animales suprarrenalectomizados. Si se relacionan estos resultados con las observaciones de Secker, y se admite que el tonus vascular es mantenido normalmente mediante la actividad del sistema vaso-motor, por intermedio de sus fibras adrenérgicas, entonces sería dable pensar que normalmente el tonus vascular dependería de la presencia de un stock adecuado de hormona córtico-suprarrenal. Recordemos ahora el hecho que *el hipertireoidismo predispone claramente al animal para el shock* (137), hecho que nos conduce a enfocar la interrelación que hay entre glándula tiroides y corteza suprarrenal.

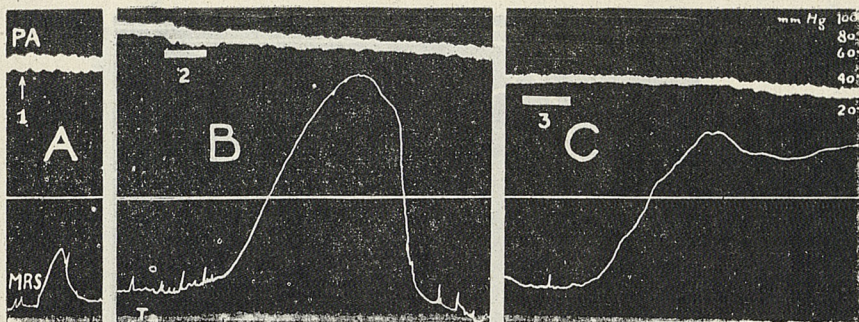


FIG. 12. — *Serie I, Exp. 20, 31-VII-42.*

Gato hipertireótico, hembra. Ha recibido 12 mgrs. de tiroxina en once días y bajó 29% de su peso. El día del experimento pesaba 1,700 grs.

Anestesia Dial 1,1 cc. La gráfica muestra en (1) efecto de 0,1 gama de Acetilcolina (inyección intra carotídea). Entre A y B, reducción de la circulación* (ligadura de la aorta inmediatamente por debajo del diafragma y de la cava inferior próxima al corazón). En (2) estimulación del vago derecho con 6 volts, frecuencia 50. Entre B y C 10 minutos de intervalo. En (3) estimulación del vago izquierdo con la misma intensidad anterior. Nótese la falta absoluta de efecto cardíaco y la contractura del músculo recto superior del ojo.

PA. presión arterial, MRS. músculo recto sup. T. 30''.

FIG. 12. — *Hyperthyreotic female cat, 1700 grs.*

The animal received 12 mgrs. of thyroxine during 11 days and lost 29% of its weight. Dial, 1,1 cc.

The record shows at 1) the effect of intracarotic injection of 0,1 gama of Acetylcholine.

Between A and B the circulation was reduced by clamping the abdominal aorta and v. cava inferior.

At 2): stimulation of the right vagus with 6 volts and frequency 50/sec.

Between B and C: 10 minutes of rest.

At 3) stimulation of the left vagus with intensity 6 volts and frequency 50/sec.

Note: Absolute lack of cardiac vagus effect and contracture of the rectus superior muscle of the eye.

P. A. arterial pressure.

M. R. S. rectus superior muscle of the eye.

Time 30''.

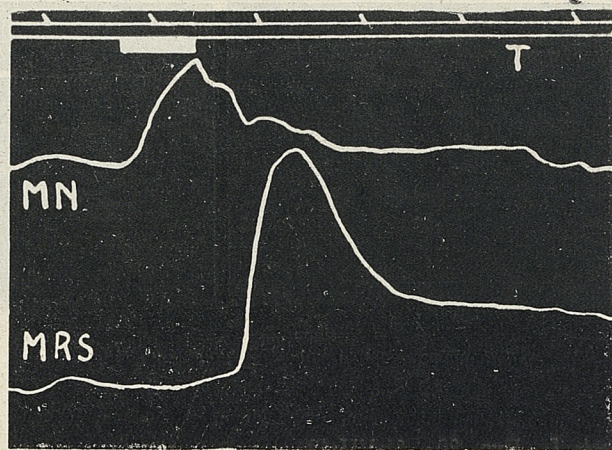


FIG. 13. — *Serie I. Exp. 34. 6-X-42.*

Gato hipertireótico, hembra. Ha recibido 21 mgrs. de tiroxina en 28 días en los que bajó 27% de su peso. El día del experimento pesaba 2,200 grs.

Anestesia Dial 1,1 cc. La señal indica la estimulación del simpático cervical derecho con 4,5 volts y frecuencia 50/seg. MN.: la respuesta de la membrana nictitante derecha y MRS: la contractura del músculo recto superior del ojo. (Preparación con circulación reducida.) T. 30".

FIG. 13. — *Hyperthyreotic female cat, 2,200 grs.*

The animal had been treated with 21 mgrs. of thyroxine during 28 days and had lost 27% of its weight. Dial, 1,1 cc.

The signal above marks the stimulation of the right cervical sympathetic with 4,5 volts and frequency 50/sec.

M. N. Response of the right nictitating membrane.

M. R. S. Contracture of the rectus superior muscle of the eye.
(Preparation with reduced circulation).

Time 30".

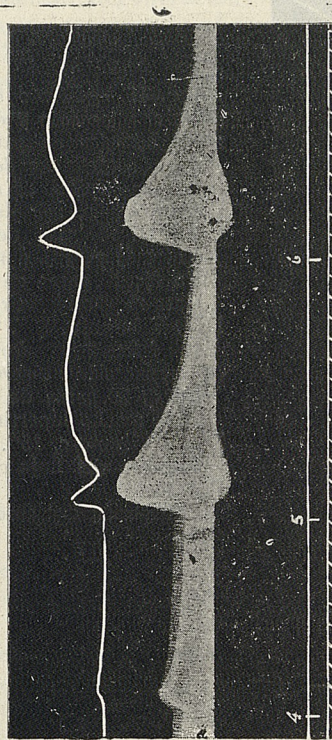
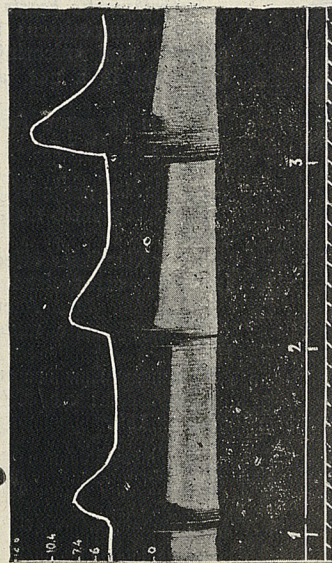


FIG. 14.—Efecto de la Acetilcolina sobre el miocardio y coronarias de corazones aislados según Langendorff antes y después de Atropina.

Gato normal, hembra 2,350 grs. N.º 35. Anestesia Dial. 22-VII-43. T. c. 15''.

En 1): 10 gama Acetilcolina.

En 2): 20 gama Acetilcolina.

En 3): 50 gama Acetilcolina.

Atropinización del Tyrode. 1 gama p/cc. de Tyrode.

En 4): 10 gama Acetilcolina.

En 5): 50 gama Acetilcolina.

En 6): 100 gama Acetilcolina.

Gráfica superior, registro del flujo coronario mediante «reógrafo» (82), calibración expresada en cc./60''. Gráfica inferior: registro de las contracciones ventriculares mediante palanca (Amplific. 1:10).

FIG. 14.—Effect of Acetylcholine on the myocardium and the coronaries of the isolated heart (Langendorff technique) before and after atropinization.

Normal female cat, 2350 grs. N.º 35. Dial.

At 1): 10 gama Acetylcholine.

At 2): 20 gama Acetylcholine.

At 3): 50 gama Acetylcholine.

Atropinization of the perfusion solution (1 gama/c.c. Tyrode).

At 4): 10 gama Acetylcholine.

At 5): 50 gama Acetylcholine.

At 6): 100 gama Acetylcholine.

The upper tracing represents the coronary flow recorded with the method described in (82).

Calibration: c.c./60''.

The lower tracing represents the myocardium activity (contractions amplified 1:10). Time 15'.

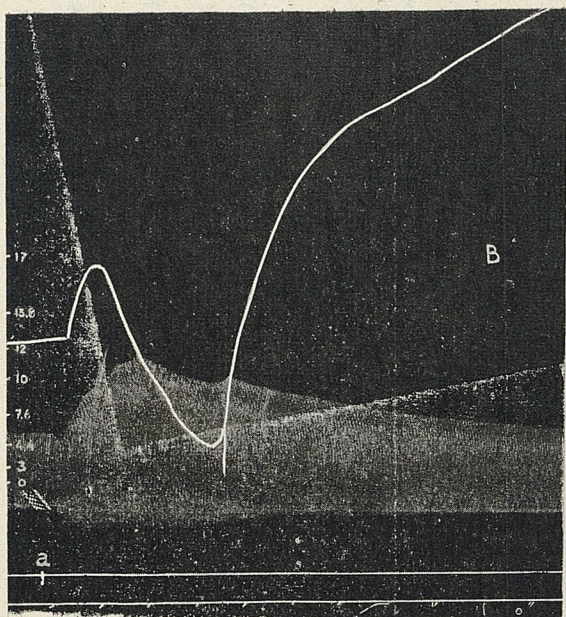


FIG. 15. — Efecto de la Acetilcolina sobre el miocardio y coronarias en corazones aislados de gatos hipertireóuticos.

A. «Competencia» de efecto «muscarínico» y «nicotínico» de la Acetilcolina en preparación no atropinizada.

En 1): 10 gama de Acetilcolina.

Entre 1) y 2): 0,5 mgrs. Ergotamina.

En 2): 10 gama de Acetilcolina.

Gato macho hipertireóutico. 1,800 grs.

Dial. Tiempo c. 15".

B. Efecto nicotínico de la Acetilcolina en preparación no atropinizada.

En a: 20 gama de Acetilcolina.

Gato macho hipertireóutico, 2,250 grs.

Dial. Tiempo c. 15".

Registro del flujo coronario como en Fig. 14.

Calibración expresada en cc./60".

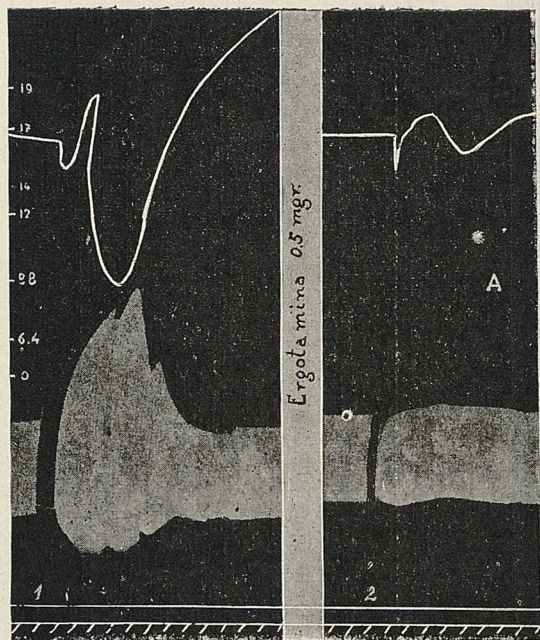


FIG. 15. — Effect of Acetylcholine on the myocardium and the coronaries of isolated hyperthyroid hearts (cat.).

A. «Competition» between the «muscarinic» and «nicotinic» effect of Acetylcholine in a not atropinized preparation.

At 1): 10 gama Acetylcholine.

Between 1) and 2): 0,5 mgrs. Ergotamine.

At 2): 10 gama of Acetylcholine.

Hyperthyroid male cat. 1,800 grs. Dial.

B. «Nicotinic» effect of Acetylcholine in a not atropinized preparation.

At a: 20 gama Acetylcholine.

Hyperthyroid male cat, 2,250 grs.

Dial.

Coronary flow recorded as in Fig. 14.

Calibration: c.c./60".

Time 15".

the Wallerian degeneration. However, a similar phenomenon to this is also known to exist in the sympathetic effectors. Already in the year 1904 Elliot (48) had described that the sympathetic of moribund *adrenalectomized* cats presents this disturbance, and only 34 years later Secker (140) resumed these experiments and made the extraordinary statement that, *as a consequence of the extirpation of the suprarenal glands, — an hour or so after the operation — the response of the nictitating membrane and the small intestine to the repeated stimulation of the corresponding sympathetic fibres, becomes gradually and irrevocably extinguished, and that it is possible to make the response reappear by giving suprarenal cortical hormone.* The author interprets these results in the sense that a precursor substance of the sympathetic transmitter becomes exhausted in the terminal fibers of the sympathetic, such a substance being supplied by the hormones of the suprarenal cortex, (a theory which does not appear very probable in the light of our experimental results.)

On the other hand, the numerous modern investigations of Swingle and his co-workers (146) show that it is easier to produce irreversible shock in adrenalectomized animals. If these results are connected with the observations made by Secker, and it is admitted that the vascular tonus is normally maintained by means of the activity of the vaso-motor system, through its adrenergic fibres, it would then be possible to believe that normally the vascular tonus would depend on the presence of an adequate stock of suprarenal cortical hormone. At this point let us recall the fact *that hyperthyroidism clearly predisposes the animal to shock* (137), a fact which leads us to focus the interrelation existing between the thyroid glands and the suprarenal cortex.

As there are many clinical and experimental observations which indicate an evident antagonism between these two endocrine organs (86, 79, 80, 141, 120, 144, 102, 139, 112, 101, 50, 127, 67, 30, 94, 143) (antagonism which, as will be shown subsequently, is one of the strongest points in favour of our theory on the mechanism of the action of the thyroid hormone), we have thought it convenient to repeat Secker's experiments, without allowing ourselves to be influenced by the theory of a hypothetical sympathetic substance; therefore, we did not limit our experiments to the stimulation of the sympathetic, but we were interested also in observing, in the acute experiment, the effect which the lack of hormone of the suprarenal cortex has on the cardiac vagus, a system which, as we have seen, becomes intensely disturbed in thyrotoxicosis.

After a great number of experiments (*Exp. Series L*) carried out during the period December 1942 to September 1943, we have arrived at the conclusion that Secker's results must be taken with some restrictions, since apparently they cannot be reproduced at certain times of the year. During the months between December and April we have not been able to observe a single case of lack of response by the nictitating

Como existen muchas observaciones clínicas y experimentales que indican un evidente antagonismo entre estos dos órganos endocrinos (86, 79, 80, 141, 120, 144, 102, 139, 112, 101, 50, 127, 67, 30, 94, 143) (antagonismo que, como veremos más adelante, es uno de los pilares más fuertes que soporta nuestra teoría sobre el mecanismo de la acción de la hormona tiroídea), hemos creído conveniente repetir los experimentos de Secker, sin dejarnos influenciar por la teoría de una hipotética sustancia transmisora simpática; por eso, no nos limitamos sólo a estimular el simpático, sino que nos interesamos también por conocer el efecto que tiene la falta de la hormona córtico-suprarrenal, en el experimento agudo, sobre el vago cardíaco, sistema éste que, como hemos visto, se altera profundamente en la tirotoxicosis.

Varias decenas de experimentos (*Experimentos. Serie L*) ejecutados entre Diciembre de 1942 y Septiembre de 1943, nos han llevado a la conclusión de que los resultados de Secker deben tomarse con ciertas restricciones, ya que aparentemente no se pueden reproducir en ciertas épocas del año. Entre los meses de Diciembre, hasta Abril, no hemos podido observar un sólo caso de falla de la respuesta de la membrana nictitante o del corazón a la estimulación del simpático cervical y vago respectivamente después de la suprarrenalectomía bilateral. Al final de los experimentos, que duraban hasta 10 horas desde el momento de la suprarrenalectomía, los efectores respondían tan bien como antes de la extirpación a la excitación de sus nervios respectivos. Pero a partir de Mayo se observaron algunos casos de falla de los efectos de la estimulación del simpático y también *del vago* después de la suprarrenalectomía; tenemos que hacer resaltar el hecho interesante que el vago parece ser más lábil que el simpático, ya que su acción cardíaca se extingue más precozmente que la acción del simpático sobre la membrana. En los casos en que pudimos constatar una falla del mecanismo de transmisión, el estudio histológico de las glándulas tiroideas reveló un franco *estado hiperefuncional*, mientras que en la mayoría de los experimentos negativos, se encontraban glándulas con epitelio aplanado y folículos ricos en coloide. Estos resultados tienen para nosotros una importancia extraordinaria, ya que demuestran, no sólo que los experimentos de Secker han sido efectuados todos, al parecer, al final de una época prolongada en que, en Inglaterra, las glándulas tiroideas de los gatos se encuentran hiperactivas (muy probablemente al final del Invierno), sino que también porque muestran una vez más la estrecha correlación que existe entre la función de las hormonas tiroídea y córtico-suprarrenal.

Los resultados experimentales de Secker han conducido a este autor a la concepción de que la hormona córtico-suprarrenal es necesaria para el funcionamiento normal del transmisor adrenérgico. Pero de nuestros experimentos se desprende que no solamente sufre la transmisión

membrane or by the heart to the stimulation of the cervical sympathetic and vagus, respectively, after the bilateral adrenalectomy. At the end of the experiments, lasting up to 10 hours after the adrenalectomy, the effectors responded to the stimulation of their respective nerves just as well as they did before the extirpation. However, from May on, some cases of failure, after adrenalectomy, were observed in the effect of the stimulation of the sympathetic and *also of the vagus*. We must point out the interesting fact that the vagus appears to be more labile than the sympathetic since the cardiac effect of the former is extinguished earlier than the action of the sympathetic on the membrane. In those cases in which we were able to verify a deficiency in the transmission mechanisms, a histological study of the thyroid glands revealed a clear hyperfunctional state, while in the majority of negative experiments, the glands were found with flat epithelium and follicles rich in colloid. These results are extraordinarily important to us, in as much as they show, not only that all Secker's experiments were apparently carried out at the end of a season during which, the thyroid glands of cats are in a hyperactive state (probably at the end of the English winter), but also they show once again the close correlation existing between the function of the thyroid gland and the suprarenal cortex.

Secker's experimental results have lead this author to believe that the hormone of the suprarenal cortex is necessary for the normal functioning of the adrenergic transmittor. Our experiments, however, show that not only is the sympathetic transmission affected, but also the response of the cholinergic effectors, as we have seen in the case of the cardiac vagus (Fig. 16). Moreover, experiments in which we stimulated the sciatic nerve of cats, adrenalectomized in the acute experiment, show that in this territory the neuro - transmission is also affected presenting a greater fatigability of the gastrocnemius - soleus - muscle. The neuromuscular transmission is improved notably by giving suprarenal cortex hormone (Fig. 17), a fact which substantially agrees with the results published by other authors, who also found disturbances in the responses of the skeletal muscle in adrenalectomized animals (95, 118, 88, 89).

On the other hand, our experiments show that very similar disturbances in the response of the effector to indirect stimulation, can be obtained in animals which have been given thyroid hormone over a prolonged period. There is also the fact shown by us that the extirpation of the suprarenal glands in the *acute experiment*, only produces the effect described by Secker in those cases in which the thyroid gland is to be found in a hyperfunctional state, and we are under the impression that this state must have existed over a prolonged period for the symptoms of failure in the neurotransmission to appear.

simpática, sino que también la respuesta del *efector colinérgico* como lo hemos visto en el caso del vago cardíaco (Fig. 16). También los experimentos en los cuales excitamos el ciático de gatos suprarrenalectomizados en el experimento agudo demuestran que en este territorio sufre asimismo la neurotransmisión en el sentido de una mayor inhibición del músculo gástronemio-sóleo. *La administración de hormona córtico-suprarrenal mejora notablemente la transmisión neuromuscular* (Fig. 17), hecho que concuerda bastante bien con los resultados publicados por otros autores, quienes encontraron igualmente alteraciones en las respuestas del músculo esquelético a la excitación nerviosa a consecuencia de la suprarrenalectomía (95, 118, 88, 89).

Por otra parte, nuestros experimentos demuestran que semejantes alteraciones en la respuesta de los efectores a la excitación indirecta, se obtienen en animales a los cuales se ha suministrado en forma prolongada la hormona tiroídea. Existe también el hecho demostrado por nosotros que la extirpación de las glándulas suprarrenales en el experimento agudo, produce sólo el efecto descrito por Secker en los casos en que la glándula tiroídea se encuentra en un estado de hiperfunción, y tenemos la impresión de que es necesario que este estado haya subsistido durante un tiempo prolongado para que se manifiesten síntomas de falla en la neurotransmisión.

De manera que podemos concluir que la interpretación dada por Secker para estos fenómenos, no se puede seguir sosteniendo, sino que creemos que es posible afirmar *que el funcionamiento normal de la transmisión nerviosa depende del equilibrio funcional entre glándulas tiroídea y suprarrenal y que, siempre que se altere este equilibrio en el sentido de una prevalencia de la función tiroídea, sufre la neurotransmisión*. Esta interpretación se fundamenta en experimentos en los cuales ha sido posible mejorar notablemente la neurotransmisión alterada de animales hipertireóticos mediante el suministro agudo de extracto de corteza suprarrenal (Escatin Parke Davis) (Fig. 18 y 19).

Recopilemos ahora brevemente lo constatado experimentalmente: Tanto en animales hipertireóticos como en suprarrenalectomizados; se observan profundas alteraciones en la neurotransmisión, alteraciones que afectan en forma semejante, aunque en grado diferente, el sistema periférico simpático, parasimpático y motor. Estos disturbios en la neurotransmisión presentan, por una parte, cierta semejanza con los que se obtiene con la administración de venenos neurotropos, y por otra, con los descritos para la degeneración de Waller, semejanza que hace pensar que la hipertireosis y la suprarrenalectomía ponen en marcha procesos

We may conclude, therefore, that the interpretation given to these phenomena by Secker cannot be sustained any longer, but we believe that it is possible to affirm *that the normal functioning of the neurotransmission depends on the functional equilibrium between the thyroid and suprarenal glands, and that the neurotransmission is affected if this equilibrium is disturbed by a prevalence of the thyroid function.* This interpretation is founded on acute experiments in which it has been possible to notably improve the disturbed neurotransmission of hyperthyreotic animals by the injection of suprarenal cortical extracts. (Escatin Parke Davis). (Fig. 18, 19)

Following is a brief compilation of experimental verifications: As much in hyperthyreotic as in adrenalectomized animals, profound disturbances exist which affect in a similar manner, although to a different degree, the peripheric sympathetic, parasympathetic and motor systems. These disturbances in the neurotransmission present a certain resemblance, on the one hand, to those obtained by neurotrope poisons, and, on the other, to those described for the Wallerian degeneration, a resemblance which leads to the belief that hyperthyreosis and adrenalectomy cause similar chemical processes to those induced by poisons or degeneration. A general and characteristic phenomenon observed both in hyperthyreotic and adrenalectomized animals, *is the gradual extinction of the response of the neurovegetative and somatic effectors to successive stimulations of the respective nerves.* This fact leads to the belief that the metabolic processes taking place in the nerve, are influenced both by the thyroid gland and the suprarenal cortex, or, to outline our idea: the suprarenal cortex supplies an agent which neutralizes the toxic catabolic products liberated as a consequence of the stimulation of the nerve, active substances which exercise a local action on the nervous elements and the corresponding effectors and produce general effects on passing into the circulation (peripheral circulatory collapse or «curarization» of a neuro effector system). These metabolic intermediaries can be detected experimentally only in cases where, as a consequence of intense and prolonged hyperthyreosis, the «anti - toxic» agents that, in our belief, are principally represented by the sterols of the suprarenal cortex, have become exhausted. This interpretation is borne out by the fact, already mentioned, that it is possible, in the acute experiment, to improve the disturbed neurotransmission of the hyperthyreotic animal, by giving cortical hormone intravenously.

The antagonism which we have found experimentally between the thyroid gland and the suprarenal cortex, in relation to neurotransmission, does not represent, as already mentioned, anything new from a general point of view, since certain bibliographic indications are available which refer to experimental observations in connection with this subject (see page 33). Moreover, the observations of North American clinicians, in the

químicos similares a los inducidos por los tóxicos o la degeneración. Un fenómeno general y característico observado tanto en animales hipertireóticos como suprarrenalectomizados, es la *extinción paulatina de la respuesta de los efectores* neurovegetativos y somáticos a excitaciones sucesivas de los nervios respectivos. Este hecho hace pensar en que los procesos metabólicos, que se realizan en el nervio, son influenciados tanto por la glándula tiroidea como por la corteza suprarrenal, o para expresar nuestro concepto en forma esquemática: la corteza suprarrenal proporciona un agente que neutraliza los productos catabólicos tóxicos liberados a consecuencia de la excitación del nervio, sustancias activas que ejercen su acción localmente sobre los elementos nerviosos y los efectores correspondientes y producen, al pasar a la circulación, efectos generales (colapso circulatorio periférico o «curarización» de un sistema neuroefector). Estos metabolitos intermediarios se pueden captar experimentalmente sólo en el caso que, a consecuencia de una hipertireosis intensa y prolongada, se hayan agotado los agentes «anti-tóxicos» que, como pensamos, se encuentran representados principalmente por los esteroides de la corteza suprarrenal. En favor de esta interpretación habla el hecho, ya citado anteriormente, que es posible, en el experimento agudo, mejorar la neurotransmisión alterada del animal hipertireótico, mediante el suministro endovenoso de hormona cortical.

El antagonismo entre la glándula tiroidea y la corteza suprarrenal que hemos encontrado experimentalmente, en relación con la neurotransmisión, no representa, como ya hemos mencionado, desde un punto de vista general una novedad, ya que se dispone de ciertas indicaciones bibliográficas que se refieren a observaciones experimentales en conexión con este tema (véase pág. 39). También la observación de clínicos norteamericanos, en el sentido de que las manifestaciones del hipertiroidismo grave presentan una gran semejanza con las de la insuficiencia suprarrenal (67), es corroborada por el hecho que el suministro de hormona córtico-suprarrenal en la hipertireosis grave, produce efectos favorables y, a veces, sorprendentes (67, 30). De gran interés teórico son los experimentos que demuestran que animales *tiroidectomizados sobreviven mejor la extirpación de las glándulas suprarrenales* que los normales (158) y que, a consecuencia de una *insuficiencia suprarrenal latente, aumenta enormemente la sensibilidad frente a la tiroxina* (158, 94a).

Pero sabemos que existen también otras sustancias que tienen efectos protectores contra las manifestaciones de la insuficiencia suprarrenal, por una parte, como también, contra los efectos de la hipertireosis, y nos parece muy elocuente el hecho que estas sustancias tienen entre sí un estrecho parentesco químico. Así, las hormonas sexuales y otras sustancias del tipo de los esteroides ejercen efectos favorables tanto en la insuficiencia suprarrenal, como en la hipertireosis. El *Progesterón*, por ej., esteroide que tiene estrecho parentesco fisiológico con las hormonas de la corteza suprarrenal, *mejora los síntomas de la insuficiencia suprarrenal* (89, 28, 63, 123, 130). Por otra parte, se han observado claras mejorías del *hipertiroidismo* mediante el suministro de altas dosis de *hormonas ováricas* (42, 129). Esta acción se acostumbra interpretar (sin base experimental

sense that severe hyperthyreotic manifestations present a great resemblance to those of suprarenal insufficiency (67), are corroborated by the fact that the administration of suprarenal cortical hormone in thyrotoxicosis produces favourable and, sometimes, surprising effects (67, 30). Of great theoretical interest are the experiments which show that thyroidectomized, rather than normal animals, are better able to survive the extirpation of the suprarenal glands (158) and that, as a consequence of a latent adrenal insufficiency, the sensibility against thyroxine increases enormously (158, 94a).

However, we know there exist other substances which have protective effects against the manifestations of suprarenal insufficiency as well as against the effects of hyperthyroidism, and the fact that these substances have a close chemical relationship between themselves appears very eloquent. Thus, the sexual hormones and other substances of the sterol type exercise favourable effects both in suprarenal insufficiency and hyperthyreosis. The *Progesterone*, for example, a sterol having a close physiological relationship with the hormone of the suprarenal cortex, improves the symptoms of suprarenal insufficiency (89, 28, 63, 123, 130). On the other hand, marked improvements have been observed in hyperthyroidism as a result of high doses of *ovarian hormones* (42, 129). This action is usually interpreted (without decisive experimental basis) as an inhibition of the thyroid gland by way of the anterior lobe of the hypophysis. We believe rather that the sexual sterols act in the same manner, although probably to a smaller degree, as the suprarenal cortical substances; that is, by means of a direct «anti-toxic» attack on the metabolic substances produced by the action of the thyroid hormone.

Certain experimental data also indicate the possibility of the existence of a connection between the physiological activity of certain cardiac glucosides of the sterol type and the suprarenal cortex (159). On the other hand, it has been shown that the glucosides referred to, given in appropriate doses to guinea-pigs and rats, possess a protective action against the manifestations produced with thyroxine (93).

In experiments carried out on rats (Exp. Series M), animals in which it is possible to raise the cholesterolemia by giving cholesterol by mouth over a prolonged period, we have been able to observe that this substance has a marked protective effect and that much higher doses of thyroid hormone are necessary to produce toxic symptoms and death of the animals, than in the control animals fed without the addition of cholesterol.

The existence of an antagonistic relation between intermediary catabolites of thyrotoxicosis and some sterols becomes continually more evident, a fact arrived at from a series of observations both clinical and experimental. Thus, for example, up to the present day it has not been possible to interpret the phenomenon that in hyperthyreosis there always exists a considerable decrease of the blood cholesterol, the concentration of which keeps an inverse relation to the gravity of hyperthyroidism (111, 124, 29, 35, 66), to drop in the thyrotoxic crisis to minimum values (87). In thyroid insufficiency, on the other hand, the cholesterol level is found to be high and very unsteady. A rather schematic interpretation of these facts is the following: the hyperthyreotic organism appears to have

decisiva) como una inhibición de la glándula tiroídea vía lóbulo anterior de la hipófisis. Nosotros pensamos más bien que los esteroides sexuales actúan en el mismo sentido, aunque tal vez en menor grado que las sustancias córtico-suprarrenales, esto es, mediante un ataque directo «anti-tóxico» sobre productos metabólicos producidos por la acción de la hormona tiroídea.

Hay también experimentos que indican la posibilidad de una relación que existiría entre la actividad fisiológica de ciertos glucósidos cardíacos del tipo de los esteroides y la de la corteza suprarrenal (159). Por otra parte, se ha demostrado que los glucósidos mencionados, suministrados a cobayos y ratones en dosis apropiadas, tienen una acción protectora contra las manifestaciones producidas por la inyección de tiroxina (93).

En experimentos realizados en ratas (Experimentos. Serie M), animales en los cuales es posible elevar la colinesterinemia mediante administración prolongada de colesterol por vía oral, hemos podido observar que esta sustancia tiene un claro efecto protector y que se necesitan dosis mucho más elevadas de hormona tiroídea que en los controles, alimentados sin adición de colesterol, para producir síntomas tóxicos y la muerte de los animales

Se nos hace cada vez más evidente que existe una relación antagónica entre algunos esteroides y catabolitos intermediarios de la tireotoxicosis, hecho que se desprende de una serie de observaciones tanto clínicas como experimentales. Así, por ejemplo, hasta hoy día no se ha podido interpretar el fenómeno que en la hipertireosis existe siempre un considerable descenso del colesterol sanguíneo, sustancia cuya concentración guarda una relación inversa a la gravedad del hipertireoidismo (111, 124, 29, 35, 66), para descender, en la crisis tirotóxica, a valores mínimos (87). Por el contrario, en la insuficiencia tiroídea el nivel del colesterol se encuentra elevado o muy fluctuante. Interpretemos estos hechos en forma esquemática: el organismo hipertireótico parece tener un elevado consumo de colesterol, mientras que el hipotireótico requiere menos de esta sustancia.

Muy significativa es la observación experimental que el suministro de hormona tiroídea produce ya después de pocas horas un descenso del colesterol sanguíneo (60, 148), hecho que habla en favor de un ataque directo de la hormona en el metabolismo de los lipoides.

Con el concepto de que la mayor presencia de esteroides protege contra las manifestaciones del hipertireoidismo, se explicaría también el fenómeno que los animales herbívoros son mucho más sensibles a la intoxicación con la hormona tiroídea que los carnívoros, animales estos últimos que ingieren, con los alimentos, grandes cantidades de colesterol.

En el mismo sentido habla la observación clínica que en la nefrosis, enfermedad en la cual se presenta una gran hipercolesterolemia, existe una enorme resistencia a la hormona tiroídea (153) y que es posible suministrar dosis 20 a 40 veces superiores a la tera-

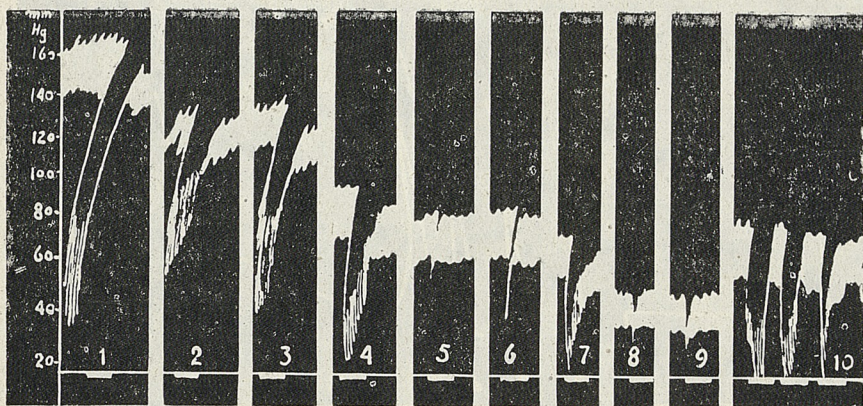


FIG. 16.—Efecto de la hormona córtico-suprarrenal sobre la respuesta del corazón a la estimulación del vago en el gato suprarrenalectomizado.

Gato normal N.º 22.

1) Respuesta del corazón a la excitación del vago con intensidad supramáxima y freq. de 60 por seg. durante 15/segundos. Registro presión arterial.

2) Respuesta del corazón después de 14 estimulaciones con intervalos de 15 segundos.

3) Después de 1 minuto de reposo.

Suprarrenalectomía total entre 3) y 4).

4) Respuesta cardíaca a la excitación del vago 18 minutos después de la operación.

5) Después de 14 excitaciones, con intervalos de 15 segundos.

6) Después de 1 minuto de reposo absoluto.

7) Respuesta después de 45 minutos de reposo.

8) Después de 14 excitaciones con intervalos de 15 segundos.

9) Después de 1 minuto de reposo.

Inyección endóvena lenta de Escatín (P. D.) 1 cc. en 10 cc. de Tyrode, entre 9) y 10).

10) Respuesta a 3 estimulaciones, 8 minutos después de la inyección.

FIG. 16. — Effect of the suprarenal cortical hormone upon the heart vagus response of an adrenalectomized cat. Blood pressure registration.

Normal cat, N.º 22.

1) Response of the heart to supramaximal vagus stimulation with frequency 60/sec. during 15".

2) Response of the heart after 14 stimulations of the vagus with 15 sec. 's intervals.

3) After a 1 minute's rest.

Between 3) and 4) total adrenalectomy.

4) Response of the heart to vagal stimulation 18 minutes after the operation.

5) Response after 14 stimulations (intervals of 15").

6) Response after a 1 minute's rest.

7) Response after a rest of 45 minutes.

8) Response after 14 stimulations with rest intervals of 15 sec.

9) Response after a rest of 1 minute.

Between 9) and 10) slow endovenous injection of 1 c.c. Eschatin P. D. in 10 c.c. of Tyrode solution.

10) Response to 3 stimulations, 8 minutes after the injection of Eschatin.

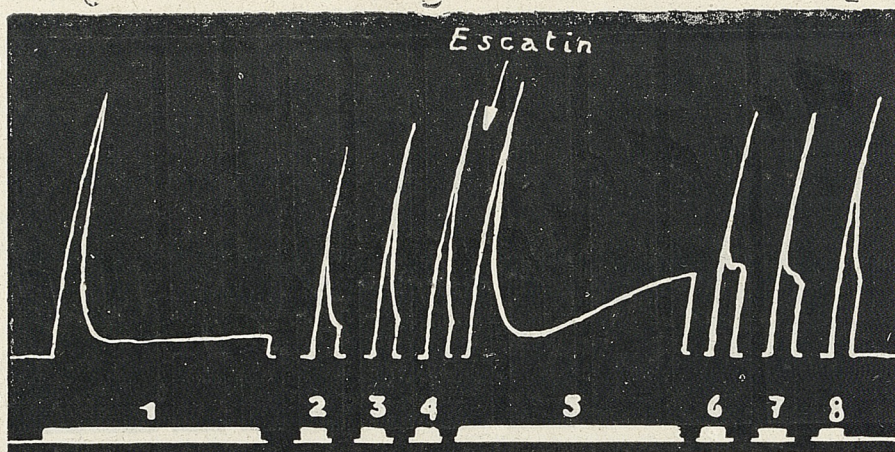


FIG. 17. — Efecto de la hormona córtico-suprarrenal sobre respuesta del gastrocnemio-sóleo a la estimulación del ciático en el gato suprarrenalectomizado.

Animal normal, macho de 2,500 grs. Anestesia Dial 1,8 cc. 14-VI-43.

45 minutos antes de 1) se terminó la suprarrenalectomía doble; se estimuló el ciático 25 veces con frecuencia 60/seg. e intensidad supramáxima durante períodos de 30 seg. y con intervalos de 15/seg.

Después de la última estimulación y antes de 1) trece minutos de reposo.

En 1): estimulación supramáxima del ciático con frecuencia 128/seg. durante 5 minutos.

Entre 1) y 2) 60 seg. de reposo.

2) Estimulación de 30 seg. de duración.

Entre 2) y 3) dos minutos de reposo.

3) Estimulación como en 2).

Entre 3 y 4) dos minutos de reposo.

4) Estimulación como en 2) y 3)

Entre 4) y 5) trece minutos de reposo e inyección endov. de 2 cc. de Escatin P. D. diluídos en 8 cc. de Tyrode.

5), 6), 7) y 8) serie de estimulaciones iguales a 1), 2), 3) y 4).

Nótese aumento de tensión durante la estimulación en 5) y mejor mantenimiento de la tensión muscular en las estimulaciones 6), 7) y 8).

FIG. 17. — Effect of the suprarenal cortical hormone on the response of the gastrocnemius-soleus muscle to sciatic nerve stimulation in a acutely adrenalectomized cat.

Normal male animal, 2500 grs. Dial, 1,8 cc.

45 minutes preceeding 1) the double adrenalectomy was terminated.

Subsequently, the sciatic nerve was stimulated 25 times with a frequency 60/sec. and supramaximal intensity during 30 sec. periods with rest-intervals of 15 sec.

After the last stimulation of this series and before 1) there were 13 minutes of rest.

At 1) supramaximal stimulation of the sciatic nerve with a frequency of 128/sec. during 5 minutes.

Between 1) and 2): 60 sec. of rest.

At 2) sciatic nerve stimulation during 30 sec.

Between 2) and 3) a rest of 2 minutes.

At 3) stimulation as in 2).

Between 3) and 4) a 2 minute's interval.

At 4) stimulation as in 2) and 3).

Between 4) and 5) a 13 minute's rest and endovenous injection of 2 cc: Eschatin P. D. in 8 cc. of Tyrode's solution.

5), 6), 7) and 8) stimulations as in 1), 2), 3) and 4).

Note: Increase of muscular tension during the stimulation at 5) and a better maintainance of tensions at 6), 7) and 8).

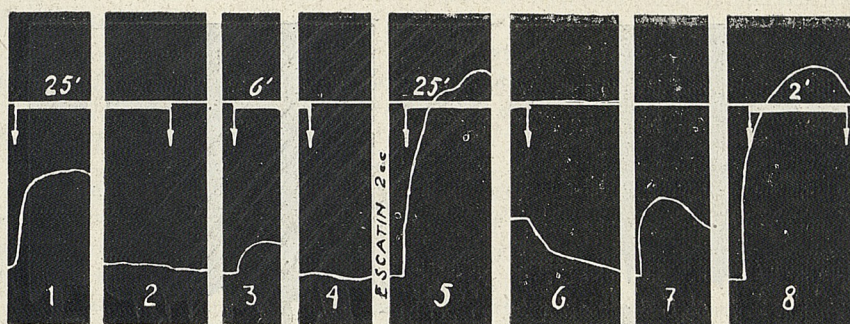


FIG. 18. — *Mejoramiento por la hormona córtico-suprarrenal de la respuesta de la membrana nictitante a la estimulación del simpático en un animal hipertireóico.*

Gato hipertireóico macho, peso 1,500 grs. Exp. N.º 11, serie L, del 2-VI-43. El animal recibió 36 mgrs. de Tiroxina por vía subcutánea durante un período de 32 días y bajó 29% de su peso inicial. Anestesia Dial 0,8 cc.

Ojo enucleado. Inscrpción de la contracción de la membrana nictitante a la estimulación del simpático.

Respuesta inicial de la membrana en 1). En 2) término del período de estimulación de 25 minutos con intensidad supramáxima y frecuencia 29/seg. Entre 3) y 4) principio y término de una estimulación de 6 minutos. después de un reposo de 5 minutos. Entre 4) y 5) dos cc. de Escatin P. D. diluído en 8 cc. de Tyrode tibio (por vía endovenosa). En 5) y 6) principio y fin de la estimulación como en 1) hasta 2). 7) y 8) respuestas a las estimulaciones después de 5 y 10 minutos de reposo respectivamente.

FIG. 18. — *Improvement, due to administration of suprarenal cortical hormone, of the nictitating membrane response to sympathetic stimulation in a hyperthyreotic animal.*

Male cat, 1500 grs. Exp. 11. Series L.

The animal has been treated with 36 mgrs. of thyroxine during a period of 32 days and had lost 29% of its initial weight. Dial, 0,8 cc.

Eye enucleated. Record of the contractions of the nictitating membrane to sympathetic stimulation.

At 1) initial response of the membrane.

At 2) end of the stimulation period initiated at 1) of 25 min. duration (with supra-maximal intensity and a frequency of 29/sec.).

At 3) and 4) beginning and end of a 6 min. stimulation, after a 5 min. rest.

Between 4) and 5) 2 cc. Eschatin P. D. intravenously in 8 cc. of Tyrode's solution.

At 5) and 6) beginning and end of a stimulation as at 1) to 2).

At 7) and 8) responses of the membrane to stimulations after periods of rest of 5 and 10 min. respectively.

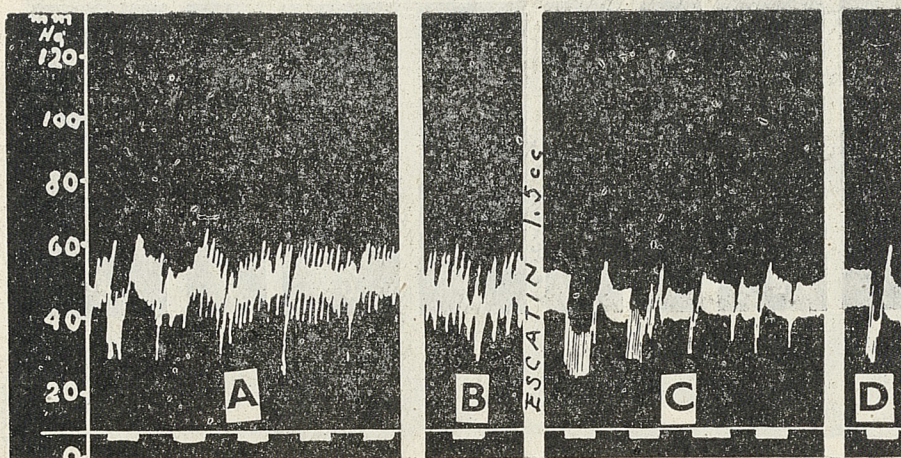


FIG. 19. — *Efecto favorable de la hormona cortico-suprarrenal sobre la transmisión vago-cardíaca en animal hipertireótico.*

Gato macho hipertireótico, peso 900 grs. Experimento N.º 12 de la Serie L. (26 mgrs. de Tiroxina en 26 días. Baja de peso: 42%). Dial 0,5 cc.

Estimulación del vago derecho con frecuencia 60 seg. e intensidad supramáxima. Registró presión arterial en carótida izquierda.

A) Cinco estimulaciones sucesivas del vago, de 15'' de duración cada una, con intervalos de 15''. B)) Estimulación de igual duración después de un reposo de 90''. Obsérvese recuperación insignificante.

Entre B) y C) se inyecta 1,5 cc. de Escatin P. D. por vía endovenosa.

En C) cuatro estimulaciones en la misma forma como en A). Entre la última estimulación en C) y la excitación en D) un minuto de intervalo. Obsérvese el buen efecto vagal de las primeras excitaciones en C) y la recuperación apreciable en D).

FIG. 19. — *Favorable effect of the suprarenal cortical hormone on the vagus-heart transmission in a hyperthyreotic animal.*

Male cat, 900 grs. Exp. 12. Series L.

(26 mgrs. of thyroxine during 26 days). The animal had lost 24% of its initial weight. Dial, 0,5 cc.

Stimulation of the right cervical vagus with supramaximal intensity and frequency 60/sec.

Blood pressure record in left carotis.

A) Five successive vagus stimulations, each of 15'' duration, with intervals of 15''.

B) Stimulation of the same duration after a 90 sec. rest. Note: insignificant recovery.

Between B and C intravenous injection of 1,5 cc. Eschatin P. D.

At C: four successive stimulations as at A.

Between the last stimulation at C and the vagus stimulation at D there was a 1 min. interval.

Note: The pronounced vagal effect of the first stimulations at C, and the marked recovery at D.

a high consumption of cholesterol, while the hypothyreotic requires less of this substance.

We find very significant the experimental observation that the thyroid hormone produces, after a few hours, a decrease of the blood-cholesterol (60, 148), a fact which seems to support the view of a direct attack of the hormone on the lipoid metabolism.

The belief that a larger stock of sterols protects against the manifestations of hyperthyreodism, would perhaps account for the fact that herbivorous animals are much more sensitive to intoxication with thyroid hormone than carnivorous, which take great quantities of cholesterol in their food.

To the same effect is the clinical observation that in nephrosis, a condition presenting a great hypercholesterolaemia, there is to be found a strong resistance to the thyroid hormone (153) and it is possible to give doses 20 to 40 times higher than the usual therapeutic, without toxic symptoms appearing; but once the cholesterol blood level becomes normal under treatment with the hormone, these big doses may cause dangerous manifestations.

Some authors (62a, 89a, 156, 47a) sustain that, during the last months of pregnancy, the manifestations of a concomittant hyperthyreosis improve, and it is a very suggestive fact that it is precisely during this period that the level of the cholesterol is raised.

We must draw attention to the great similarity between the myasthenic symptoms of hyperthyreosis and those of the myasthenia gravis, a disease presenting motor manifestations like those produced in a partial curarization (76) and, in which, in our opinion, there must exist metabolic disturbances resembling those of hyperthyreosis, an opinion recently expressed by others (110). In support of this view there are two clinical facts of great interest: the myasthenia gravis presents spontaneous remissions during the last months of pregnancy (150) and the disease can be favourably influenced by giving high doses of suprarenal cortical hormone (114).

The favourable effects observed in hyperthyreosis, as a consequence of giving vitamin A (103, 143 and others), could probably be explained by the fact shown for the human species, that this vitamin has a marked influence on the cholesterol metabolism, an influence which is manifested by an elevation of the cholesterolaemia (138).

We assume, therefore, based on our experiments, that, as a consequence of the stimulation of the nerves, toxic substances are liberated, which, in the normal organism, would be rapidly neutralized. But in certain abnormal conditions, such as hyperthyreosis, suprarenal insufficiency and intoxication with neurotropic poisons, these active substances, liberated by the stimulated nerves, are not neutralized by the available anti-toxic agents. *Clinical and experimental facts seem to support the opinion that the antagonistic substances must be of the sterol type.*

Actually, we know very little concerning the metabolism and the physiological rôle of cholesterol (see also page 55), but one fact appears

péutica usual, sin que se presenten síntomas tóxicos; pero, en el momento en que se normaliza el nivel del colesterol sanguíneo bajo el tratamiento con la hormona, estas grandes dosis suelen producir manifestaciones peligrosas.

Algunos autores (62a, 89a, 156, 47a) sostienen que, en la segunda mitad del embarazo, mejoran las manifestaciones de una hipertireosis existente, y es muy sugestivo el hecho que es, precisamente en este período, en que, normalmente, se eleva el nivel del colesterol.

Debemos llamar la atención sobre la gran semejanza que existe entre los síntomas miasténicos de la hipertireosis y los de la miastenia gravis, enfermedad que presenta manifestaciones motoras similares a las producidas por una curarización parcial (76) y, en la cual, según nuestro concepto, deben existir alteraciones metabólicas parecidas a las de la hipertireosis, concepto sugerido también recientemente por otros (110). En apoyo de esta interpretación hablarían dos hechos clínicos de sumo interés: la miastenia gravis presenta remisiones espontáneas en la segunda mitad del embarazo (150) y la enfermedad se puede influenciar favorablemente mediante el suministro de altas dosis de hormona córtico-suprarrenal (114).

Los efectos favorables observados en la hipertireosis, a consecuencia del suministro de vitamina A (103, 143 y otros), tendrían tal vez una explicación por el hecho demostrado para la especie humana, de que esta vitamina tiene una marcada influencia sobre el metabolismo del colesterol, influencia que se manifiesta por una elevación de la colesteroemia (138).

Postulamos, basados sobre nuestros experimentos, la liberación de sustancias tóxicas a consecuencia de la estimulación de nervios, sustancias que, en el organismo normal, parecen ser neutralizadas rápidamente; pero existen ciertas condiciones, como lo son la hipertireosis, la insuficiencia suprarrenal y la intoxicación con venenos neurotropos, en los cuales estas sustancias activas liberadas por la estimulación de los nervios no alcanzan a ser neutralizadas por los agentes antitóxicos disponibles. *Los hechos clínicos y experimentales imponen el concepto de que las sustancias antagonicas deben ser del carácter de los esteroides.*

En realidad, es bien poco lo que sabemos sobre el metabolismo y el rol fisiológico del colesterol (véase también pág. 56), pero un hecho parece estar demostrado: este cuerpo tiene la propiedad de formar complejos moleculares atóxicos con ciertos venenos. Muy conocidos son los complejos que forma el colesterol con la digitonina y otras saponinas (Windaus), con toxinas bacterianas (cit. seg. 121) y con *productos de desintegración de los fosfolípidos*, como ha sido demostrado, por ejemplo para su mecanismo desintoxicante contra la acción del veneno de serpiente (Fournéau): el colesterol no actúa directamente sobre estos venenos, sino que mediante la formación de un complejo atóxico con la *lisocitina*, sustancia hemolítica ésta que se forma de la lecitina, bajo la acción del fermento lipolítico contenido en el veneno de serpiente (Bibl.

to be demonstrated: this substance has the property of forming atoxic molecular complexes with certain poisons. Well known are the complexes formed by cholesterol with digitonine and other saponines (Windaus), with bacterian toxins (cit. seg. 121) and with *desintegration products from the phospholipids*, as has been demonstrated, for example, for its disin-toxicating mechanism against the action of snake venom (Fourneau.) The cholesterol does not act directly on these venoms, but by means of the formation of an atoxic complex with lysocithine, a haemolytic substance which derives from the lecithine, under the action of the lipolytic enzyme contained in the snake venom (Bibl. condensed in 58). Moreover, even «in vivo» a prior treatment with cholesterol protects the animals against intoxication with cobra venom (115).

If in reality the cholesterol, or other sterols derived from it, neutralizes the toxic substances caused by phospholipid cleavage, it would then be necessary to assume, thinking teleologically, a greater presence of this substance in tissues in which active processes of phospholipid cleavage occur. Thus, for example, a plausible explanation could be given of the known, but to date puzzling fact, that the nervous structures contain such considerable quantities of free cholesterol. On the other hand, Winterstein's investigations (151) have shown that it is precisely in these tissues where there *exists an intense fat metabolism which is raised considerably by electric stimulation*, and the author maintains that we must first turn to the phospholipids, since it was possible to demonstrate an appreciable increase of the phosphorous metabolism in the central and peripheral nervous system, as a consequence of stimulation. Also Gerard, referring to the fact observed by him that the prolonged stimulation of a nerve causes a breakdown of phosphorous compounds, which progresses continuously even during the period of rest consecutive to the tetanus (64), says that, of all the phosphorous compounds of the nerve to be taken into account, the phospholipids «are so strikingly abundant in nerve that it might fairly be assumed that they are the source of the extra phosphate» (65).

The fact that specific enzymes which act on the lecithine have been found in the nervous system, also bears out the hypothesis of the possible formation in the nerve of substances originating from the phospholipid cleavage (65, 121): lecithinase A is an enzyme which splits one of the non saturated fatty acids to give origin to lysocithine. Lecithinase B has the property of separating the other fatty acid from the lysocithine, and is probably able to do so directly from lecithine. Lecithinase C, acts by removing phosphoric acid and choline; consequently, it is almost impossible not to consider a possible participation of the myelin in the active metabolism of the nerve, in view of the fact that Acetylcholine which, as we know, takes such an important part in the neurotransmission, is chemically connected with an end product of myelin breakdown, choline. This opinion which we arrived at during the course of our investigations has already been expressed by Gerard in the year 1932 (65).

Winterstein's opinion that «all acceleration of the catabolism and all degenerative processes in the nervous system lead to a greater cleavage of phosphatides» appears to us very suggestive. Mention must also be made, in this respect, to the ancient papers of Halliburton (73), who was able to demonstrate the presence of choline in the cerebro-

resumida en 58). También «in vivo» un tratamiento previo con colesterol protege a los animales contra la intoxicación con veneno de cobra. (115).

Si realmente el colesterol u otros esteroides derivados de él neutralizan las sustancias tóxicas provenientes del clivaje de los fosfolípidos, entonces habría que postular, pensando teleológicamente, una mayor presencia de este cuerpo en los tejidos en los cuales existen procesos activos de desdoblamiento de fosfolípidos. Así, por ej., se podría dar una explicación plausible para el hecho tan conocido, pero hasta hoy día enigmático, de que las estructuras nerviosas contienen cantidades tan considerables de colesterol libre. Por otra parte, las investigaciones de Winterstein (151) y su escuela han mostrado que es precisamente, en estos tejidos, donde existe un *intenso metabolismo graso que se eleva considerablemente a consecuencia de la estimulación eléctrica*, y el autor sostiene que hay que pensar en primer lugar en los *fosfolípidos*, ya que se pudo demostrar un apreciable aumento del metabolismo del fósforo en el sistema nervioso central y periférico, a consecuencia de la excitación. También Gerard, refiriéndose al hecho observado por él de que la excitación prolongada de un nervio conduce a un desdoblamiento de fosfato combinados, desdoblamiento que progresa continuamente aun durante el período de reposo consecutivo al tétano (64), dice que, de todos los compuestos fosforados del nervio que habría que considerar aquí, los fosfolípidos «are so strikingly abundant in nerve that it might fairly be assumed that they are the source of the extra phosphate» (65).

En favor de la hipótesis de que se formarían sustancias provenientes del clivaje de los fosfolípidos en el nervio, habla también el hecho que se han encontrado en el sistema nervioso *enzimas específicas* que actúan sobre la lecitina (65, 121): la lecitinasa A es un fermento que separa uno de los ácidos grasos no saturados para dar origen a lisocitina. La lecitinasa B tiene el poder de desprender el otro ácido graso de la lisocitina, y es probable que lo pueda hacer también directamente de la lecitina. La lecitinasa C, en cambio, actúa por remoción del ácido fosfórico y de la colina; en consecuencia, es casi imposible deshacerse de la idea de que la *mielina* participe en el metabolismo de actividad del nervio, en vista de que la Acetilcolina que, como sabemos, desempeña un tan preponderante papel en la neurotransmisión, se encuentra químicamente relacionada con la colina. Este concepto que se nos formó en el curso de nuestras investigaciones ya ha sido expresado en el año 1932 por Gerard (65).

Nos parece muy sugestivo el concepto de Winterstein según el cual «toda aceleración del catabolismo y todos los procesos degenerativos en el sistema nervioso conducen a un mayor desdoblamiento de fosfátidos». Hay que mencionar, también a este respecto, los antiguos trabajos de Halliburton (73), quien pudo demostrar la presencia de colina en el líquido cerebro-espinal de pacientes con procesos degenerativos del sistema nervioso central, hallazgo que interpreta como índice de un mayor desdoblamiento de fosfolípidos en estas estructuras. De extraordinario interés son los experimentos realizados por este mismo autor en el nervio periférico seccionado: la degeneración de este tejido se produciría principalmente por una *desaparición de los fosfolípidos* de la vaina de mielina del nervio. En este tejido las alteraciones químicas e histológicas guardan, durante la degeneración, un estrecho paralelismo. Mientras se produce la degeneración (de Waller), que se controla histológicamente mediante la reacción de Marchi, se observa un paulatino descenso del contenido en fósforo que desaparece completamente del ner-

spinal liquor of patients with degenerative processes of the central nervous system, findings which he interpreted as indicating a greater phospholipid cleavage in these structures. The experiments carried out by this author in the severed peripheral nerve are extraordinarily interesting: the degeneration of this tissue is probably principally produced by a *disappearance of the phospholipids* from the myelin sheath of the nerve. In this tissue the chemical and histological disturbances keep, during degeneration, a close parallelism. While the Wallerian degeneration is produced, which is histologically controlled by means of the Marchi reaction, a gradual decrease in the phosphorous content can be observed which disappears completely from the nerve after some 30 days, counted as from the date it was severed, to reappear progressively during regeneration.

The alterations which we have found in the peripheric nerve in hyperthyreosis and other similar disturbances, lead us to believe, in the first place, in the possibility that these pathological processes might be produced by a common cause: *an acceleration of the destruction of the phospholipids of the nerve to which could be added, perhaps, a relative insufficiency of the anti-toxic mechanisms represented, specially, by free cholesterol and other similar substances.* It must be mentioned here that there exist isolated data in the bibliography (109, 119) which indicate *a lower content of cholesterol in the nervous system of hyperthyreotic animals*, a finding of great theoretical interest which we are trying to verify at present.

Taking our theory as a basis it would be expected that a condition characterized by an accelerated phospholipid cleavage, as for example the Wallerian degeneration, should be aggravated by the action of the thyroid substance and, actually, it has been found that on supplying this hormone the degeneration of a severed nerve is accelerated (65).

To give a solid basis to our hypothesis there is lacking a more complete knowledge respecting the metabolism of phospholipids, a study which is very difficult to realize. There are only isolated facts available giving an approximate idea on certain factors which influence the cleavage of phospholipids; we are, however, fairly well informed about the pharmacology of some substances derived from this cleavage.

Feldberg, (54 to 59) in a series of excellent experiments, has shown that the *lysocithine*, which appears as a consequence of the enzymatic action of certain snake venoms on lecithine, not only exerts an haemolytic action, but is able to make the cells permeable to their Histamine, a substance which is kept normally in an inactive linkage in the organs and which, under the action of lysocithine, *passes into the general circulation to produce its effects* (peripheral circulatory failure, etc.). The experiments of this worker explain the pharmacological action of certain substances derived from the phospholipid cleavage and, moreover, point out that not only are some snake venoms able to form toxic lysocithine-like substances, but that this process is rather a *general one*. Thus, the bee

vio al cabo de unos 30 días, a partir de la sección, para reaparecer progresivamente durante la regeneración.

Las alteraciones que hemos encontrado en el nervio periférico en la hipertireosis y en todas las perturbaciones similares, nos conducen a pensar, en primer término, en la posibilidad de que esos procesos patológicos serían producidos por una causa común: *una aceleración de la destrucción de los fosfolípidos del nervio a la cual se agregaría, quizá, una insuficiencia relativa de los mecanismos antitóxicos representados, sobre todo, por el colesterol libre y algunas sustancias similares.* Debemos mencionar aquí que existen datos aislados en la bibliografía (109, 119) que indican *un menor contenido en colesterol del sistema nervioso en animales hipertireóticos*, hallazgo de sumo interés teórico que en la actualidad tratamos de verificar.

Tomando como base nuestra teoría sería de esperar que un estado que se caracteriza por una acelerada desintegración de fosfolípidos, como lo es, por ej., la degeneración de Waller, se debería agravar bajo la acción de la hormona tiroidea y, en realidad, se ha encontrado que el suministro de este inereito acelera la degeneración de un nervio seccionado (65).

Para fundamentar sólidamente nuestra hipótesis de trabajo, hace falta un conocimiento más completo respecto del metabolismo de los fosfolípidos, estudio que es de muy difícil realización. Sólo disponemos de hechos aislados que dan una idea aproximada de ciertos factores que influyen en el desdoblamiento de los fosfolípidos; estamos, sin embargo, bastante bien informados acerca de la farmacología de algunas sustancias provenientes de este clivaje.

Feldberg (54 hasta 59), en una serie de excelentes trabajos, ha demostrado que la *lisocitina* que se forma en las células a consecuencia de la acción encimática de ciertos venenos de serpiente, no sólo ejerce una acción hemolítica, sino que tiene la propiedad de hacer a las células más permeables para la Histamina, sustancia que normalmente se encuentra preformada en los órganos y que pasa bajo la acción de la lisocitina *a la circulación general para producir sus efectos* (colapso circulatorio periférico, etc.). Los trabajos de este autor dan a conocer la acción farmacológica de ciertas sustancias provenientes del desdoblamiento de los fosfolípidos y señalan, además, que en la formación de sustancias tóxicas lisocitino-símiles no sólo concurren venenos de algunas serpientes, sino que se trata de un *fenómeno más general*. Así, el veneno de abejas, la ricina, y la crotina, las hemolisinas del cólera y la estafilocócica, etc., actúan sobre los fosfolípidos formando lisocitina, sustancia que, por su parte, libera Histamina de los órganos. Pero no únicamente los venenos de conocida acción hemolítica tienen como efecto la liberación de Histamina, sino que también otros agentes, *que producen lesión celular*, conducen a la liberación

venom, ricin and crotin, the cholera and staphylococcal haemolysins, etc., act on the phospholipids forming lysocithine, a substance which, on its turn, releases Histamine in the organs. However, Histamine is not only released by the effect of venoms having well known haemolytic action, but other *cell injurious agents* also lead to the release of «H - substances», as for example, peptone, ultraviolet light, the antigen - antibody reaction of anaphylaxis, etc. *Normally, the Histamine seems to be firmly anchored on the lipoprotein films of cellular structures.* Starting from the assumption of such a structure (based on modern physico - chemical experiments (128), the conclusion could be arrived at with Feldberg, that both the factors acting on the proteins and those which split the lipids, can lead to the release of Histamine. In general, all the pharmacologically active substances contained in the organs, in their inactive form, would be combined with the lipoprotein substratum of the cells, and by the action of lysocithine the structure of the films would be destroyed and the active substances released. It has thus been shown that substances derived from phospholipid cleavage are able to release adenylic compounds from the perfused heart (93a), Acetylcholine from brain suspension (59a, 63a), Adrenaline from the adrenal medulla (59a) and the Histamine already mentioned; the latter is easily detected and is one of the active substances most usually found in the tissues.

Independently from Feldberg, and starting from very different physiological observations, Anrep and his co - workers (9) have been able to show that *Histamine* is released in the skeletal muscle *as a consequence of prolonged indirect stimulation.* To ascertain whether muscular activity or nervous stimulation produces this effect, the authors used *curare* to stimulate the nerve with elimination of the muscular effect, and were surprised to find that the sole fact of giving curare, even in non - paralyzing doses, *led to the release of considerable amounts of Histamine*, which appeared in the venous blood of the muscle (5). This elimination of Histamine from the skeletal muscle is produced not only during its activity, but as well as a consequence of its denervation (8-II). Similarly, the isolated smooth musculature, e. g., the gastro - intestinal tract, behaves in the same way during its activity, and the stimulation of the vagus has the same effect of liberating Histamine in the organs innervated by it (7). Besides, independently from Anrep and his co - workers, it has been shown that the intense stimulation of the sympathetic leads to the appearance, in the blood, of considerable quantities of Histamine (97).

These authors do not connect their observations with Feldberg's theory and do not consider the possibility that the liberation of Histamine, in nervous stimulation and curarization, could be the consequence of a process of phospholipid cleavage, a process which, in the stimulation of the nerve, would be extremely plausible for the aforementioned reasons (Gerard and Winterstein). It would be possible to surmise that curare also belongs to the group of agents which destroy the lipoprotein films of cell protoplasm, thus provoking the release of Histamine.

de «sustancias H», como por ejemplo, la peptona, la luz ultravioleta, la reacción antígeno-anticuerpo en la anafilaxia, etc. *Normalmente la Histamina parece estar firmemente anclada en las membranas lipo-proteicas que integran la estructura protoplasmática de las células.* Partiendo de la suposición de tal estructura (que se basa en trabajos físico-químicos modernos) (128), se podría concluir con Feldberg que tanto los factores que actúan sobre las proteínas como aquellos que desdoblan los lípidos, pueden conducir a la liberación de Histamina. En general, todas las sustancias farmacológicamente activas contenidas en los órganos se encontrarían, en forma inactiva, combinadas con el substrato lipoproteico de las células, *y este anclaje sería destruido por sustancias del tipo de la lisocitina*, capaces de penetrar en tales estructuras. Así se ha demostrado que productos de desdoblamiento de fosfolípidos son capaces de liberar compuestos adenílicos del corazón perfundido (93a), Acetilcolina de una suspensión de cerebro (59a, 63a), Adrenalina de la médula suprarrenal (59a) y la Histamina que ya hemos mencionado anteriormente; esta es fácilmente detectable y es una de las sustancias activas que se encuentra más universalmente representada en los tejidos.

Independientemente de Feldberg y partiendo de observaciones fisiológicas muy distintas, Anrep y sus colaboradores (9) han podido demostrar que se libera *Histamina* del músculo esquelético *a consecuencia de una estimulación prolongada indirecta.* Para averiguar si es la actividad muscular la que produce este efecto o la estimulación nerviosa, los autores emplearon el *curare* para excitar el nervio con eliminación del efecto muscular y vieron, con sorpresa, que el sólo hecho de suministrar *curare*, aun en dosis no paralizantes, *conducía a la liberación de considerables cantidades de Histamina* que aparecían en la sangre venosa del músculo (5). Esta eliminación de Histamina del músculo esquelético no sólo se produce durante su actividad, sino también (y en forma continua) a consecuencia de su *enervación* (8-II). Asimismo la musculatura lisa aislada, como por ejemplo la del tracto gastrointestinal, se comporta durante su actividad del mismo modo, y la excitación del vago tiene igualmente como efecto la liberación de Histamina en los órganos inervados por él (7). E independientemente de Anrep y sus colaboradores se ha demostrado que la excitación intensa del simpático conduce a la aparición, en la sangre, de considerables cantidades de Histamina. (97)

Estos autores no relacionan sus observaciones con la teoría de Feldberg y no consideran la posibilidad de que la liberación de Histamina, en la estimulación nerviosa y en la curarización, podría ser la consecuencia de un proceso de desintegración de fosfolípidos, proceso que, para la estimulación del nervio, sería sumamente plausible por las razones arriba expuestas (Gerard y Winterstein). Sería dable pensar que también el *curare* pertenece al grupo de agentes que actúan sobre las películas lipo-proteicas celulares movilizand o alguna sustancia lisocitino-símil que, por su parte, sería la responsable de la liberación de Histamina.

We would not presume to generalize even further Feldberg's theory applying it to the action of the *thyroid hormone* if there did not exist data indicating that *this agent deeply disturbs the metabolism of the lipids*.

Measurements of the gaseous metabolism under different experimental conditions reveal that, the participation of fats in the oxydative processes increases considerably under the influence of the thyroid hormone, which is manifested by a decrease of the respiratory quotient (27). Experiments are also available showing that, under the action of the hormone, the fat content of the organs becomes rapidly lower (specially in the musculature), even before an appreciable rise of the general metabolism appears (2). The assumption of an altered utilization of the lipids is borne out by the fact that, in the hyperthyreotic animal, the supply of fat in the diet rises considerably the oxydative rate (3), while, in the normal animal, the fat has a contrary effect (15). In the hyperthyreotic animal, the depotfat is characterized by being considerably less saturated than in the normal animal, which could be taken as an indication of a big increase in the oxydations of the lipids produced by the thyroid hormone (125).

We have previously mentioned the rapid and almost immediate action which the thyroid hormone has on the decrease of blood cholesterol. This effect of the hormone appears to indicate that the «latency» of the thyroid effect, in reality, does not exist, but rather that the hormone acts *immediately*, and perhaps it would not be out of place to believe in the possibility that the appreciable thyrotoxic manifestations appear only at the moment when a lack of equilibrium becomes apparent between certain substances originating from the phospholipids and their antidotes: the free sterols. With reference to the latency period, Harington (74) observes that this phenomenon seems to indicate that «the thyroid hormone acts by setting in train a complicated mechanism rather than by itself directly influencing any particular process in the body» and we believe that one, and probably the most important, mechanism brought into action by the hormone is the acceleration of the phospholipid cleavage.

What experimental possibilities are available to objectify such an assumption? Let us remember that Feldberg considers the liberation of active substances, such as Histamine, as an indication of an accelerated phospholipid cleavage. For this reason we considered it necessary to determine the Histamine content of different organs taken from normal and hyperthyreotic rats.

There is an experimental work on this subject (70), made with the object of finding an explanation for dermatographism and urticaria, which are very common phenomena in hyperthyreotic patients; the authors investigated the Histamine content of the skin of hyperand hypothyreotic animals and found a considerable increase of Histamine in thyrotoxicosis and a decrease as a consequence of thyroidectomy.

No nos atreveríamos a generalizar aún más la teoría de Feldberg, aplicándola a la acción de la *hormona tiroídea* si no existieran datos que indican que *ésta perturba profundamente el metabolismo de los lípidos*.

Mediciones del metabolismo gaseoso en variadas condiciones experimentales revelan que, bajo la influencia de la *hormona tiroídea* aumenta considerablemente la participación de las grasas en los procesos oxidativos, lo que se manifiesta por un descenso del cociente respiratorio (27). Se dispone también de experimentos que muestran que, bajo la acción de la *hormona*, baja rápidamente el contenido en lípidos de los órganos (en especial de la musculatura), aun antes de que se haya manifestado apreciablemente la elevación del metabolismo general (2). En favor de la suposición de un aprovechamiento alterado de los lípidos habla el hecho de que, en el animal hipertireótico, el suministro de grasa en la dieta, eleva considerablemente las oxidaciones (3), mientras que, en animal normal, la grasa tiene un efecto contrario (15). En el animal hipertireótico, la grasa depositada se caracteriza por ser considerablemente menos saturada que en el animal normal, lo que se podría tomar como indicio de un gran aumento de las oxidaciones de los lípidos producido por la *hormona tiroídea* (125).

Ya hemos mencionado anteriormente la acción rápida y casi inmediata que tiene la *hormona tiroídea* sobre el descenso del colesterol sanguíneo. Este efecto de la *hormona* nos parece indicar que no existe, en realidad, la «latencia» del efecto tiroideo, sino que la *hormona* actúa en *forma inmediata*, y no sería quizá muy aventurado pensar en la posibilidad de que las manifestaciones tirotóxicas apreciables aparezcan sólo en el momento en que se ha producido el desequilibrio entre ciertas sustancias provenientes de los fosfolípidos y sus antidotos: los esteróles libres. Refiriéndose al período de latencia, Harington (74) observa que este fenómeno hace pensar en que «the thyroid hormone acts by setting in train a complicated mechanism rather than by itself directly influencing any particular process in the body» y *creemos que uno y quizá el más importante de los mecanismos puestos en juego por la hormona es la aceleración del desdoblamiento de fosfolípidos*.

¿De qué posibilidad experimental disponemos para objetivar tal suposición? Recordemos que Feldberg considera la liberación de sustancias activas, como lo es la Histamina, como índice de un acelerado desdoblamiento de fosfolípidos. Por esta razón nos pareció indicado titular el contenido en Histamina de diversos órganos provenientes de ratones normales e hipertireóticos.

Sobre este tema existe un trabajo experimental (70), que se hizo con el fin de poder dar una explicación para el dermatografismo y la urticaria, fenómenos tan corrientes en pacientes hipertireóticos; los autores investigaron el contenido en Histamina de la piel de animales hiper e hipotireóticos y encontraron un aumento considerable de Histamina en la tireotoxicosis y un descenso a consecuencia de la tiroidectomía.

In our experiments (*Series N*) carried out on rats, we determined Histamine in the kidneys, liver, heart, blood, skeletal muscle, stomach and peripheric nerve. The Best (19) or the Feldberg's (58) method was employed in the extraction, and Histamine was determined on the atropinized low ileum of the guinea-pig according to Kwiatkowski (96). Of all the organs examined the most pronounced changes were found in the stomach, where the Histamine increases from an average of 17 gamma for the normal rat to 56 gamma for the hyperthyreotic rat, and in the skeletal muscle, where we have average amounts of 4,5 gamma for the normal muscle and 65 gamma for the hyperthyreotic, (expressed in Histamine acid phosphate, grm.).

Therefore, we can say that as a consequence of thyrotoxicosis, a pronounced change is produced in the distribution of Histamine, a fact which again shows the great similarity existing between the action of the thyroid hormone, on the one hand, and neurotropic poisons, adrenal insufficiency, and the effects of intense stimulation of peripheric nerves, on the other. This parallelism is specially notable as regards the increase of the concentration of Histamine in the stomach, an increase which has been found in adrenal insufficiency (131) and also (in the acute experiment in the normal animal) as a result of the action of curare and of the intense and simultaneous stimulation of various motor nerves (59).

The similarity between thyrotoxicosis and intoxication by means of curare, does not exist as regards the Histamine content in the skeletal muscle. As has already been stated, curare causes the disappearance of Histamine from the muscle, while in the thyrotoxic muscle this substance is found increased by more than 14 times its normal concentration.

However, we have observed a close resemblance between intoxication with curare and hyperthyreosis in the effects of Histamine on the arterial pressure. We have been able to show that, in a few hyperthyreotic cats, the administration of high doses of Histamine does not cause the characteristic depressor effect, a resistance to Histamine which had already been observed in hyperthyreotic patients and also experimentally in the arterial pressure of cats (92). (On the other hand, Anrep and his collaborators find that in dogs Histamine loses its effects as the action of successive injections of curare increases and, in a few cases, they obtain inversion of the effect: pressor action.)

In brief: The great amount of experimental material collected in collaboration with all the members of the Physiological Institute has made us realize, each time more evidently, a physiological fact of fundamental importance: the nervous, circulatory, and other thyrotoxicosis manifestations, are the consequence of metabolic processes similar to those caused by the administration of certain neurotropic poisons, by adrenal insufficiency, by very intense artificial stimulation of peripheric

En nuestros experimentos (*Serie N*), realizados en ratas, titulamos la Histamina en el riñón, hígado, corazón, sangre total, músculo esquelético, estómago y nervio periférico. Para la extracción se empleó el método de Best (19) o de Feldberg (58) y la Histamina se tituló en el íleo bajo atropinizado del cobayo según Kwiatkoswky (96). De todos los órganos examinados, pudimos detectar los cambios más profundos en el estómago, donde aumenta la Histamina de un promedio de 17 gama para el ratón normal a 56 gama para el hipertireótico, y en el músculo esquelético, donde tenemos valores medios de 4,5 gama para el músculo normal y de 65 gama para el del ratón hipertireótico (expresado en fosfato ácido de Histamina por gramo).

Por lo tanto, podemos decir que se produce, a consecuencia de la tirotoxicosis, un profundo cambio en la distribución de Histamina, hecho que nos muestra nuevamente la gran semejanza que existe entre la acción de la hormona tiroídea, por una parte, y la de los venenos neurotrópos, insuficiencia córtico-suprarrenal, y los efectos de la estimulación intensa de nervios periféricos, por otra. Este paralelismo es especialmente marcado en lo que se refiere al aumento de la concentración en Histamina en el estómago, aumento que ha sido encontrado en la insuficiencia suprarrenal (131) y también (en el experimento agudo en el animal normal) a consecuencia de la acción del curare y de la estimulación intensa y simultánea de varios nervios. (59)

La semejanza entre tirotoxicosis e intoxicación por curare, no existe en cuanto se refiere al contenido de Histamina en el músculo esquelético. Como ya hemos mencionado, el curare hace desaparecer la Histamina del músculo, mientras que en el músculo hipertireótico esta sustancia se encuentra aumentada en más de 14 veces.

Por otra parte, hemos observado una estrecha semejanza entre intoxicación con curare e hipertireosis en los efectos de la Histamina sobre la presión arterial. Hemos podido comprobar que en algunos gatos hipertireóticos el suministro de altas dosis de Histamina no tiene la característica acción depresora, resistencia a la Histamina que ya había sido observada antes en pacientes hipertireóticos y también experimentalmente en la presión arterial de gatos (92). (Por otra parte, Anrep y colaboradores encuentran que en perros la Histamina pierde su acción a medida que progresa la acción de sucesivas inyecciones de curare y, en algunos casos, obtienen inversión del efecto: acción presora.)

Para resumir: El abundante material experimental reunido en colaboración con todos los miembros del Instituto de Fisiología, nos ha hecho ver, en forma cada vez más evidente, un hecho fisiológico de fundamental importancia: las manifestaciones nerviosas, circulatorias, y otras de la tirotoxicosis, son la consecuencia de procesos metabólicos semejantes a los que entran en juego como resultado del suministro de ciertos

nerves, as well as to those caused by the Wallerian degeneration. We have available our own experiments as well as of other authors which allow us to set forth the hypothesis that the metabolic processes implied in these reactions, are fundamentally characterized by a greater phospholipid cleavage, followed by a more or less complete exhaustion of the stock of certain sterols which appear to have, *amongst many others*, the important function of combining with the toxic substances caused by the phospholipid cleavage.

The hypothesis of an attack of the thyroid hormone in the lipid metabolism opens a great many perspectives to physiological investigation. Up to the present, we have suspected this metabolic disturbance in connection with the function of the nervous system, a structure in which the lipids appear to play a conspicuous part. However, we believe it will be shown in the future not only that the lipid metabolism of the nervous system is regulated by the thyroid gland, but that many of the morphological and functional disturbances in general, which have been described in hyper and hypothyreosis, may be explained through the existence of a primary disturbance in the phospholipid - sterol equilibrium.

However, let us not speculate further, for the moment, on the perspectives of our investigation already under way, the object of which is to clarify as completely as possible the mechanism of action of the thyroid hormone and its antagonists, the sterols; this investigation, like all theoretical work, has practical designs tending towards a rational therapeutic. As we have already stated, this rational treatment, suggested by clinical intuition (67), is at present practised through the administration of suprarenal cortical hormone and other sterols. To extend these results, it would be interesting to try the administration of diets rich in cholesterol or of agents which influence favourably the sterol metabolism. (*)

BIBLIOTECA NACIONAL
SECCION CHILENA

(*) The favourable effect of the administration of iodine in hyperthyreosis is an evident fact, but the mechanism of this therapy has remained a complete enigma. In our opinion, iodine does not exert its action through the thyroid gland but we imagine — although at the moment we do not have available sufficient experimental material of our own — *that its therapeutic effect is the result of an extrathyroid process*. This would appear to be borne out, amongst others, by the experiments carried out on rabbits with hypercholesterolaemia, in which a further *rise* in the cholesterol is observed as a consequence of the administration of KI, *effect which is even more notable after the thyroidectomy* (148; 121, page 117). On the other hand, it has been found that, in hyperthyreotic patients, the blood cholesterol rises with iodine therapy (105a). A suggestive fact has also been observed in the clinic which shows that in hyperthyreosis the iodine injected intravenously disappears rapidly from the blood without being eliminated (150a), which bears out the fact that in hyperthyreoidism the tissues are specially equipped to hold the iodine.

We are under the impression that the iodine, given to a hyperthyreotic individual, performs the part of «economizer of sterols», an opinion which, at present, we are trying to verify experimentally.

venenos neurotropos, de la insuficiencia córtico-suprarrenal, de la estimulación artificial muy intensa de nervios periféricos, como también a consecuencia de la degeneración de Waller. Disponemos de material experimental propio y de otros autores que nos permite formular la hipótesis de que los procesos metabólicos, envueltos en estas reacciones, se caracterizan fundamentalmente por un mayor clivaje de fosfolípidos, seguido de un agotamiento más o menos completo del stock de ciertos esteroides que parecen tener, *entre muchas otras*, la importantísima función de combinarse con los productos tóxicos de la desintegración de los fosfolípidos.

La hipótesis de un ataque de la hormona tiroidea en el metabolismo de los lípidos, abre muchas nuevas perspectivas para la investigación fisiológica. Hasta el momento, nosotros sospechamos esta alteración metabólica en relación a la función del sistema nervioso, estructura en la cual los lípidos parecen desempeñar un papel sobresaliente. Pero creemos que se podrá mostrar que no son únicamente los lípidos del sistema nervioso, cuyo metabolismo es regulado por la glándula tiroides, sino que muchas de las alteraciones morfológicas y funcionales en general, que se han descrito en la hiper e hipotireosis, son explicables mediante la existencia de un disturbio primario en el equilibrio de los lípidos.

Pero no especularemos más, por el momento, sobre las perspectivas de nuestra investigación ya encauzada, que tiene por objeto esclarecer lo más completamente posible los mecanismos de la acción de la hormona tiroidea y de sus antagonistas, los esteroides, investigación que tiene, como todo trabajo teórico, proyecciones prácticas tendientes hacia una terapéutica racional. Como ya hemos mencionado, este tratamiento racional, propuesto por la intuición clínica (67), ya se practica mediante la administración de hormona córtico-suprarrenal y de otros esteroides, y quizá sería de interés ensayar clínicamente el suministro de dietas ricas en colesterol, como también probar la acción de ciertos agentes terapéuticos que parecen elevar el nivel del colesterol sanguíneo. (*)

(*) El efecto favorable del suministro de yodo en la hipertireosis es un hecho evidente, pero el mecanismo de esta terapia ha permanecido absolutamente enigmático. En nuestro concepto, el yodo no ejerce su acción vía glándula tiroides sino que supone — a pesar de que por el momento no disponemos de suficiente material experimental propio — que se trata aquí de un proceso extratiroideo. En tal sentido parecen hablar, entre otros, los experimentos realizados en conejos con hipercolesterolemia, en los cuales se observa una clara *elevación* del colesterol a consecuencia del suministro de KI, *efecto que es todavía más marcado después de la tiroidectomía* (148, 121, pág. 117). Por otra parte se ha encontrado que, en pacientes hipertireóticos, *se eleva* el colesterol sanguíneo con la terapia yódica (105a). También es sugestivo el hecho observado en la clínica de que en la hipertireosis, el yodo inyectado por vía endovenosa desaparece rápidamente de la sangre sin ser eliminado (150a), lo que habla en favor de que en el hipertiroidismo existe una disposición especial de los tejidos para captar el yodo.

Tenemos la impresión de que el yodo suministrado a un individuo hipertireótico, desempeña el papel de «economizador de esteroides», concepto que, actualmente, estamos tratando de verificar experimentalmente.

We will try and explain briefly a few of the clinical manifestations of thyroid disturbances as seen through our hypothesis.

Our studies of the neurotransmission in hyperthyreosis have lead us to the assumption that there appears an unbalanced condition in the lipid metabolism, and we consider it very possible that it is in this disturbance that we must look for some of the causes of the general metabolic manifestations produced by the hyperactivity of the thyroid gland. Considered from our point of view the action of the hormone on the oxydative rate, the old and much discussed problem of the central or peripheric «attack», entirely loses its importance since, — if the hormone acts chiefly on the lipids, — it must manifest its action on all the structures simultaneously. It is very possible that in the future it will be shown that the increase of the oxydative rate, so characteristic of hyperthyreosis, is but the last link in a chain of phenomena originating in the breakdown of the phospholipids.

It is an indisputable fact that the thyroid hormone causes an early mobilization of depot-fat in the organs, and, in connection therewith, mention must be made of Best's important discovery showing that a lecithine cleavage product, *the choline*, has lipotropic properties (18, 20-25, 51, 77, 78, 91 and others). Of great interest is the observation that choline acts specially on liver *phospholipids* considerably accelerating their cleavage (122-I) and that the administration of *cholesterol* has a contrary effect (122-II), a phenomenon which is interpreted by Channon (36) as «an excellent demonstration of the so-called cholesterol-lecithin antagonism».

The antagonism which possibly exists between the products of the phospholipid cleavage and some sterols, does not as yet have an ample chemo-physiological support. At this stage we will limit ourselves to drawing attention to the fact that cholesterol seems to play a prevailing rôle in the metabolism of the lipids; thus, — apart from its known property to esterify preferably with the nonsaturated fatty acids, forming thus, perhaps, a less oxydable compound (conjecture made by Mathews) — the cholesterol has an inhibitory action on the lipolytic ferments as much «in vivo» as «in vitro» (126), a property which has also been shown «in vitro» for the adrenal cortical hormone (71).

The close connection existing between the ability of the tissues to retain water and the function of the thyroid gland, also throws light on the rôle of cholesterol in these processes, since we know that this substance aids the other lipids in giving to cells their power of holding large quantities of water. (Myxoedema, — increase of cholesterol in the tissues, administration of thyroid hormone — decrease of cholesterol with elimination of water; water mobilization in nephrosis under the action of thyroid substance, etc.).

The theory of an accelerated phospholipid cleavage implies the possibility that substances of the lysocithine type may be released in the hyperthyreotic organism. Some of the extremely varied and polymorph manifestations of hyperthyreosis could be explained by the release of such substances and the lack of neutralizing action on them on the part of cholesterol. The lysocithine pharmacology shows us that there exists some resemblance between the results of the action of this substance and that of the thyroid hor-

Intentemos ahora explicar brevemente algunas de las manifestaciones clínicas de disturbios tiroideos a través de nuestra hipótesis:

Nuestros estudios de la neurotransmisión en la hipertireosis nos han conducido a la suposición de que se produce un desequilibrio en el metabolismo de los lípidos, y nos parece bastante plausible que hay que buscar, en esta perturbación, algunas de las causas de las manifestaciones metabólicas generales producidas por la hiperactividad de la glándula tiroidea. Considerada así la acción que desempeña la hormona sobre las oxidaciones, el antiguo y tan discutido problema del «ataque» central o periférico pierde completamente su importancia, ya que — si es que el increto actúa primeramente sobre los lípidos — él debe manifestar su acción en todas las estructuras simultáneamente. Es muy posible que en el futuro se pueda mostrar que el incremento de las oxidaciones, tan característico para la hipertireosis, no es sino el último eslabón de una cadena de fenómenos que tienen su origen en el derrumbe de los fosfolípidos.

Es un hecho indiscutible que la hormona tiroidea moviliza precozmente las grasas depositadas en los órganos, y, en relación con esto, no puede quedar sin mención el importante descubrimiento de Best que muestra que un producto del desdoblamiento de la lecitina, la *colina*, tenga propiedades lipotrópicas (18, 20-25, 51, 77, 78, 91 y otros). De sumo interés es la observación que la colina actúa especialmente sobre los *fosfolípidos* del hígado acelerando considerablemente el clivaje de ellos (122-I) y que el suministro de *cholesterol* tiene un efecto contrario (122-II), fenómeno que es interpretado por Channon (36) como «an excellent demonstration of the so called cholesterol-lecithin antagonism».

El antagonismo que existiría entre productos de clivaje de los fosfolípidos y algunos esteroides, no tiene todavía un amplio apoyo químico-fisiológico. En este sitio nos limitaremos sólo a llamar la atención sobre el hecho de que el colesterol parece desempeñar un preponderante rol en el metabolismo de los lípidos; así — fuera de su conocida propiedad de esterificarse preferentemente con los ácidos grasos no saturados, formando así posiblemente, un complejo menos oxidable (idea sugerida por Mathews) — tiene el colesterol una acción inhibitoria de los fermentos lipolíticos tanto «in vivo» como «in vitro» (126), propiedad que ha sido también demostrada «in vitro» para la hormona de la corteza suprarrenal (71).

La estrecha relación que existe entre el poder de retención de agua por los tejidos y la función de la glándula tiroidea, arroja también luz sobre el rol del colesterol en estos procesos, ya que sabemos que éste, junto con otros lípidos, confiere a las células el poder de retener grandes cantidades de agua. (Mixedema — aumento de colesterol en los tejidos; suministro de hormona tiroidea —, baja de colesterinemia, eliminación de agua, movilización de agua en la nefrosis bajo la acción de sustancia tiroidea, etc.)

La teoría de un acelerado desdoblamiento de fosfolípidos considera la posibilidad de que se liberen, en el organismo hipertireótico, sustancias del carácter de la lisocitina. Algunas de las tan variadas y polimorfas manifestaciones de la hipertireosis se podrían explicar mediante la liberación de tales sustancias y la falta de neutralización de ellas por parte del colesterol. La farmacología de la lisocitina nos muestra que existe alguna semejanza entre lo que sucede bajo la acción de esta sustancia y la de la hormona tiroidea; así, los estados de colapso periférico, extrema agitación central, gran descenso del colesterol sanguíneo, cambios en la distribución de Histamina celular, se pueden producir con

mon; thus, the conditions of peripheric collapse, extreme restlessness, great decrease of the blood cholesterol, changes in the distribution of the cellular Histamine, can be produced by the administration of lysocithine, a substance which appears to have a special affinity to nervous matter (16) with which it forms an extraordinarily toxic union (44); moreover, the lysocithine exerts its lytic power not only on the red and white blood cells, but also, to a greater degree, on the nervous substance (16). Our studies in connection with the distribution of Histamine in hyperthyreosis allow us to suspect the existence of a «lysocithinic» mechanism. Certain clinical manifestations, for example the increased gastric secretion in the initial stages of hyperthyreosis, could be explained by the rise in Histamine concentration in the stomach, and the achylia, which appears in the more advanced stages, could be the consequence of an ensuing insensitivity of the gastric glands to Histamine.

The circulatory manifestations, specially the intense dilatation of the capillaries of the skin and in other territories, observed in hyperthyreosis, could be explained not only by the direct action of lysocithine-like substances, but also by changes in the distribution of Histamine. In our opinion, the peripheric vasodilatation, so typical of hyperthyreosis, which is appreciated by the great amplitude of the «differential» pressure, at the expense of a decrease of the diastolic tension (69), has only one explanation: the toxic mechanism referred to above, and the usual teleological interpretation given to this circulatory phenomenon (145), that the greater demand of oxygen, on the part of the tissues requires a greater irrigation of them, appears to us definitely absurd, in view of the fact demonstrated experimentally that the utilization of the blood oxygen in hyperthyreosis is found to be very diminished (43, 90).

Bearing in mind the statement (page 47), that substances of the lysocithine type not only provoke the release of Histamine but also of other extremely active substances (Adrenaline, Acetylcholine, etc.), which normally are anchored in the lipo - protein films of the cells,—the pretended «alteration of neurovegetative equilibrium» in hyperthyreosis is transformed into a less vague and, experimentally, more approachable concept, which could be expressed as: a humoral disorder provoked by the incoordinated liberation of chemical mediators.

The rise of the heart rate, in hyperthyreosis, is a very complex phenomenon and can in no way be explained by the usual categoric affirmation of a rise in the sympathetic tone. The paralyzation of the heart vagus effect, in hyperthyreotic animals, is only one of the factors which contributes to the production of tachycardia. The behaviour of the intra-cardiac ganglionic apparatus, a system which shows pronounced disturbances in the hyperthyreotic animal is, in our opinion, of great importance.

The neuromotor apparatus, is intensely affected in the hyperthyreotic patient. The muscular debility already described by Charcot, is one of the prevailing symptoms and, up to the present, has remained unexplained. As has been mentioned previously, some clinicians have compared these motor manifestations with those of myasthenia gravis, a disease which, for its part, has a great resemblance to partial curarization. Lately it has been shown that it is possible, in the hyperthyreotic patient, to influence favourably

—
suministración de lisocitina, sustancia que parece tener una especial afinidad para la materia nerviosa (16) con la cual forma un complejo extraordinariamente tóxico (44); además la lisocitina desempeña su poder lítico no sólo sobre los glóbulos rojos y blancos de la sangre, sino que, y en mayor grado, sobre la sustancia nerviosa (16). Nuestros estudios relativos a la distribución de la Histamina en la hipertireosis, nos permiten sospechar la existencia de un mecanismo «lisocitínico». Ciertas manifestaciones clínicas, como por ej., la hipersecreción gástrica en la primera fase de una hipertireosis, podrían explicarse por la elevación de la concentración de Histamina en el estómago, y la aquilia, que es la regla en los estados más avanzados, podría ser la consecuencia de la desensibilización de las glándulas gástricas frente a la Histamina.

Las manifestaciones circulatorias, sobre todo la intensa dilatación de los capilares cutáneos y en otros territorios, observadas en la hipertireosis, podrían explicarse no sólo por la acción directa de cuerpos lisocitino-símiles, sino que también por cambios en la distribución de la Histamina. Según nuestro concepto, la vaso-dilatación periférica, tan típica de la hipertireosis, que se aprecia fácilmente por la gran amplitud de la presión diferencial, a expensas de un descenso de la mínima (69), tiene una sola explicación: el arriba expuesto mecanismo tóxico, y la interpretación teleológica que se acostumbra dar a este fenómeno circulatorio (145), de que la mayor demanda de oxígeno por parte de los tejidos exige una mayor irrigación de ellos, nos parece completamente absurda, en vista del hecho demostrado experimentalmente de que la utilización del oxígeno sanguíneo se encuentra muy disminuida en la hipertireosis (43, 90).

Si recordamos lo expresado anteriormente (págs. 46-48), que sustancias del tipo de la lisocitina no sólo provocan la liberación de Histamina sino que también de otras sustancias extremadamente activas (Adrenalina, Acetilcolina, etc.), que se encuentran, normalmente, firmemente ancladas en las películas lipo-proteicas de las células, entonces el pretendido «desequilibrio neurovegetativo» en la hipertireosis se transforma en un concepto más abordable experimentalmente y menos vago, concepto que se podría expresar como: «un desorden humoral provocado por la liberación incoordinada de mediadores químicos».

La elevación de la frecuencia cardíaca en la hipertireosis, es un fenómeno muy complejo y de ninguna manera se puede explicar mediante la afirmación categórica tan común de una elevación del tonus simpático. La paralización del efecto vago-cardíaco en animales hipertireóticos, es sólo uno de los factores que influye en la producción de la taquicardia. Consideramos que es de suma importancia el comportamiento del aparato ganglionar intra-cardíaco, sistema que se altera profundamente en el animal hipertireótico.

El aparato neuromotor se afecta intensamente en el paciente hipertireótico. La debilidad muscular ya descrita por Charcot, es uno de los síntomas preponderantes, y ha quedado hasta ahora completamente inexplicado. Como ya hemos mencionado, algunos clínicos han comparado, con mucho acierto, estas manifestaciones motoras con las de la miastenia gravis pseudo-paralítica, enfermedad que, por su parte, tiene gran similitud con una intoxicación parcial por el curare. Últimamente se ha comunicado que es posible, en el enfermo hipertireótico, influenciar favorablemente y en forma pasajera la debilidad muscular mediante el suministro de Prostigmina (véase pág. 24), mejoramiento

and in a transitory manner the muscular debility by means of the administration of Prostigmine (see page 23), improvement which we have been unable to verify in our experiments. From our studies we find that the characteristics of neuro-muscular transmission in the hyperthyreotic animal resemble, on the one hand, a curarization or intoxication with snake venom (page 21, 25), on the other, the first disturbances produced as a consequence of a motor nerve being severed (page 23), similarities which make us suspect that a pronounced disturbance of the lipid metabolism is to be found in all these alterations.

Many of the known ocular symptoms (Dalrymple's, v. Graefe's, Moebius' signs, etc.), are easily explained by disturbances in the neuromotor transmission of the palpebral and extrinsic eye muscles, which leads to an incoordination of the ocular movements. The possibility has also been suggested, to explain the mechanism causing exophthalmus, of a debility of the external eye muscles, structures in which it has been possible to show both clinically (116), and experimentally (4), a great increase in size and pronounced histological changes. In our judgment the other theories on the mechanism of exophthalmus, lack all objective basis, and we consider that the only factor determining the propulsion of the eye, is myasthenia. (It should be mentioned in connection herewith, that it is possible to produce exophthalmus experimentally in the dog by giving curare, a toxic which causes an extraordinary relaxation of the extrinsic eye muscles (38). This fact speaks for itself).

A phenomenon which we have looked for and found in several hyperthyreotic patients, is a great fatigability of the motor muscles of the eye: if a hyperthyreotic patient is made to follow with the eyes an object moving as a pendulum, at the height of the eyes, the patient tires rapidly and cannot continue the ocular movements, while the normal individual is practically untiring.

Based on the assumption that toxic substances are released, as a consequence of intense nervous stimulation, we could explain in like manner certain phenomena of hyperthyreoidism observed more or less frequently in the clinic. Thus, for example, in an apparently healthy person, the manifestations of Grave's disease can appear suddenly as a consequence of psychic trauma, accidents, intercurrent illnesses, etc. These same causes can also aggravate a state of existing hyperthyroidism. The common explanation of both phenomena would be the humoral effect produced by intense stimulation of a nervous system already disturbed to a greater or lesser degree by the action of the thyroid hormone, followed by a sudden exhaustion of the neutralizing mechanisms. The clinical observation shows that it is very important to avoid any cause which might provoke an intense nervous stimulation in the patient.

The general effects of nervous stimulation, observed in clinic, and by us in experimental hyperthyreosis, are manifested clearly in the circulatory and motor systems, and perhaps contribute to the elucidation of the pathogenic mechanisms which come into play in the production of the syndrome known in clinic as «thyroid crisis». A few years ago, a North American clinician, referring to this dramatic accident, said that, with absolute certainty, this is due to a profound disturbance of the blood chemistry, but «if one only knew what to measure» (61). During this condition, which may appear as a consequence of psychic or physic trauma, the circulatory symptoms are characterized by an extreme increase of the differential pressure which indicates a state of peripheric cir-

que nosotros no hemos logrado observar en nuestros animales de experimentación. De nuestros estudios se desprende que los caracteres de la transmisión neuro-muscular del animal hipertireótico se asemejan, por una parte, a una curarización o intoxicación con veneno de serpiente, por otra, a las primeras alteraciones que se producen a consecuencia de la sección del nervio motor, similitudes en el comportamiento que permiten sospechar que en todas estas alteraciones se encuentra perturbado profundamente el metabolismo de los lipoides.

Muchos de los conocidos síntomas oculares (signos de Dalrymple, v. Graefe, Moebius, etc.), son fácilmente explicados por alteraciones en la transmisión neuromotora de los músculos palpebrales y extrínsecos del ojo, lo que conduce a una incoordinación de los movimientos oculares. También para el mecanismo de la producción del exoftalmo, se ha sugerido la posibilidad de una debilidad de los músculos motores del ojo, estructuras en las cuales se ha podido demostrar, tanto clínica (116) como experimentalmente (4), gran aumento de tamaño y profundas alteraciones histológicas. A nuestro parecer, las otras teorías del mecanismo del exoftalmo carecen de toda base objetiva, y consideramos que el único factor determinante de la propulsión del ojo, es la miastenia. (Es elocuente, en relación con esto, el hecho que es posible producir experimentalmente, en el perro, un exoftalmo mediante el suministro de curare, tóxico que provoca una extraordinaria relajación de los músculos extrínsecos del ojo (38).

Un fenómeno que hemos buscado y encontrado en varios pacientes hipertireóticos es una gran fatigabilidad de los músculos motores del globo ocular: si se hace seguir a un paciente hipertireótico un objeto con los ojos, que se desplaza en forma pendular, a la altura de la vista, el enfermo se fatiga rápidamente y no puede seguir ejecutando los movimientos oculares, mientras que el individuo normal es prácticamente incansable.

Basados en la suposición de que se liberan sustancias tóxicas a consecuencia de una intensa estimulación nerviosa, podríamos explicar asimismo ciertos fenómenos del hipertiroidismo observados con bastante frecuencia en clínica. Así, por ej., en una persona aparentemente sana, las manifestaciones basedowianas pueden presentarse bruscamente a consecuencia de traumas psíquicos, accidentes, enfermedades intercurrentes, etc. Estas mismas causas pueden agravar un estado de hipertiroidismo existente. La explicación común para ambos fenómenos sería el efecto humoral producido por la intensa estimulación de un sistema nervioso, ya alterado en mayor o menor grado por la acción de la hormona tiroidea, seguido de un agotamiento brusco de los mecanismos neutralizantes. La observación clínica muestra que es de enorme importancia evitar en los pacientes toda causa que pudiera provocar una intensa excitación nerviosa.

Los efectos generales de la estimulación nerviosa, observados en clínica, y por nosotros en la hipertireosis experimental, se manifiestan con mayor claridad en el sistema circulatorio y motor, y contribuyen quizá al esclarecimiento de los mecanismos patogénicos que entran en juego en la producción del síndrome conocido en clínica como «crisis hipertiroides». Refiriéndose a este accidente tan dramático, un clínico norteamericano, hace pocos años atrás, dijo que éste, con toda seguridad, es debido a una profunda alteración del quimismo sanguíneo, pero «if one only knew what to measure» (61). Durante este estado, los síntomas circulatorios se caracterizan por un extremado aumento de la presión diferencial que indica un estado de colapso circulatorio periférico. La misma perturbación la observamos con suma frecuencia en el animal hipertireótico, a consecuencia de estimulaciones repetidas de diversos nervios. También la extrema debilidad

culatory collapse. We have observed the same disturbance frequently in the hyperthyreotic animal, as a consequence of repeated stimulations of different nerves. Moreover, the extreme muscular debility, observed during the crisis, which recalls more or less advanced stages of curarization, has its counterpart in our experiments, in which the muscular response becomes gradually extinguished, as a consequence of repeated stimulations of the corresponding nerves. And the fact that we have been able to obtain «curarization» of the heart-vagus, as a consequence of the stimulation of other nerves, also shows the great activity of the substances released in the hyperthyreotic animal by nerve stimulation.

We hope that our investigations not only may have opened a new field of experimental research to elucidate the rôle performed by the thyroid hormone in the metabolism of the lipids, which are of primary importance in the nervous system, but that they will also contribute to a better understanding of what we call «rational therapeutic of the unbalanced thyroid hyperactivity».

We are grateful for the generous assistance that has been accorded us by our friend Dr. Emiliano Armijo in the revision of the English translation of the present paper.

S U M M A R Y

The characteristics of transmission in adrenergic and cholinergic neuroeffector systems are studied in normal and hyperthyreotic animals.

It is found:

1) *That (on stimulation of the corresponding nerves) the response of the heart, pupil, nictitating membrane and skeletal muscle of hyperthyreotic animals is either completely absent as in the case of the heart vagus, or disappears very rapidly by continued or repeated stimulation, and the restoration of responsiveness takes much longer than in normal animals.*

2) *This same changes in neuroeffector transmission are observed in adrenalectomized animals in which, as in hyperthyreotic animals, the vagal innervation of the heart is the most affected.*

3) *In hyperthyreotic, as well as in adrenalectomized animals the de-*

muscular, observada en la crisis, que nos recuerda estados más o menos avanzados de curarización, tiene su homólogo en nuestros experimentos, en los cuales se extingue paulatinamente la respuesta muscular, a consecuencia de excitaciones repetidas de los nervios correspondientes. Y el hecho de que hayamos obtenido «curarización» del vago cardíaco, a consecuencia de la estimulación de otros nervios, muestra también la gran actividad de los productos liberados por la estimulación nerviosa en el animal hipertireótico.

Tenemos la esperanza de que nuestras investigaciones no sólo abran un nuevo camino para esclarecer el rol que desempeña la hormona tiroídea en el metabolismo de los lípidos, sustancias que tienen una importancia primordial en el sistema nervioso, sino que contribuyan también a una mejor comprensión de lo que llamamos «terapéutica racional de la hiperactividad tiroídea no compensada».

Debemos, en este lugar, agradecer a nuestro amigo el Dr. Emiliano Armijo, el trabajo que se ha tomado en la revisión de la traducción inglesa.

R E S U M E N

Se estudian las modalidades de la neurotransmisión y la respuesta de los efectores correspondientes en estructuras adrenérgicas y colinérgicas (parasimpáticas y motoras) en animales normales e hipertireóticos.

Se encuentra:

1.º *Que a consecuencia de la estimulación de nervios periféricos falta o se extingue la respuesta de los efectores correspondientes (corazón, pupila, membrana nictitante, músculo esquelético) en animales (conejos, gatos, ratas) hipertireóticos y que se prolonga considerablemente el tiempo requerido para la recuperación de la respuesta de los efectores a la estimulación indirecta.*

2.º *Que una semejante extinción del efecto con ausencia o retardo de la recuperación espontánea, se obtiene en animales suprarrenalectomizados, afectándose en este caso, como en la hipertireosis, preferentemente y en mayor grado, la transmisión vago-cardíaca.*

3.º *Tanto los trastornos en la neurotransmisión de la hipertireosis como aquellos de la suprarrenalectomía son influenciados favorablemente por la hormona córtico-suprarrenal.*

4.º *Se encuentra que en la hipertireosis la neurotransmisión es afectada*

teriorated neuroeffector transmission is markedly improved by the administration of adrenal cortical hormone.

4) Nicotine administered intravenously in relatively small doses in hyperthyreotic animals profoundly impairs neuroeffector transmission, while in normal animals an effect is obtained only with much higher doses.

5) The effect of hyperthyreosis on neuroeffector transmission resembles very suggestively (mainly in the case of the heart vagus) the effect of accurately administered curare (desensibilization to Acetylcholine, counteraction by eserine or prostigmine, decrease in cholinesteratic activity of serum).

6) It is interesting to point out that hyperthyreosis causes not only the alterations in neuroeffector transmission just mentioned, but stimulation of any nerve induces, in the hyperthyreotic animal, general effects such as cardiovascular disturbances (peripheral collapse, cardiac paralysis), contracture of the extrinsic eye muscles, curarization of structures others than the directly stimulated. These effects can only be explained by the assumption that toxic substances are discharged into the circulation as a consequence of neurostimulation.

7) Our experimental evidence as well as many clinical findings suggest that these toxic agents are counteracted not only by the adrenal cortical hormone, but also by other substances of the esterol type, such as sex hormones and free cholesterol.

8) Our experimental results seem to support the hypothesis that in hyperthyroidism there exists an accelerated cleavage of phospholipids with the production of lysocithine-like substances, which would produce the mobilization of biologically active substances such as Histamine, Acetylcholine, Adrenaline, Sympathine, etc.

9) An attempt is made to explain on a new physiopathological basis, some of the outstanding manifestations of hyperthyroidism. The use of hormones of the sterol type and cholesterol is proposed for the treatment of human hyperthyreosis.

intensamente por dosis relativamente pequeñas de nicotina suministrada por vía endovenosa, mientras que en los animales normales se obtiene bloqueo de la conducción con dosis muchas veces superiores.

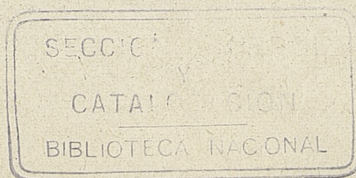
5.º *Los trastornos de la neurotransmisión de la hipertireosis se asemejan (en lo que al vago cardíaco y neuro-motor se refiere) a aquellas que se obtienen mediante el suministro agudo de curare (desensibilización a la Acetilcolina, neutralización del efecto por la Eserina o Prostigmina, descenso del poder colinesterésico del suero).*

6.º *La estimulación nerviosa en la hipertireosis no muestra sólo trastornos en la neurotransmisión y respuesta de los efectores correspondientes, sino que la estimulación de cualquier nervio conduce, en el animal hipertireótico, a manifestaciones generales que se revelan claramente por trastornos circulatorios (colapso circulatorio periférico, parálisis cardíaca), contractura de los músculos extrínsecos del ojo, «curarización» de la neurotransmisión en otras estructuras que no son las directamente estimuladas; efectos éstos que sólo pueden ser explicados mediante la liberación, a consecuencia de la estimulación, de sustancias tóxicas que pasan a la circulación.*

7.º *Se presenta material experimental y antecedentes obtenidos de la clínica, que parecen indicar que estas sustancias tóxicas, que se manifiestan por las acciones humorales descritas, son neutralizadas no sólo por las hormonas de la corteza suprarrenal sino que también por otras sustancias del tipo de los esteroides, como algunas de las hormonas sexuales y el colesterol libre.*

8.º *Se discute la posibilidad y se presentan resultados experimentales que parecen señalar que en la hipertireosis existe un acelerado clivaje de fosfolípidos con producción de sustancias lisocitino-símiles, que conducirían a la movilización, desde las células, de sustancias activas tales como la Histamina, Acetilcolina, Adrenalina, Simpatina, etc., sustancias que normalmente se encuentran ancladas en forma inactiva en las membranas lipo-proteicas.*

9.º *Finalmente, se hace un ensayo de explicación de los mecanismos fisiopatológicos que conducen a la producción de algunos de los principales síntomas del hipertiroidismo. Se propone una terapéutica para la hipertireosis humana en la que se recomienda el suministro, en altas dosis, de algunas de las hormonas del grupo de los esteroides y el colesterol.*



LISTA DE TRABAJOS NO PUBLICADOS REALIZADOS EN EL INSTITUTO DE
FISIOLOGIA QUE HAN SERVIDO DE BASE A LA PRESENTE EXPOSICION

- SERIE A.—Respuesta del corazón y músculo radiado del iris a la estimulación del vago y simpático de conejos normales e hipertireóticos. F. Hoffmann, E. J. de Hoffmann y S. Marcovich.
- SERIE B.—Blocaje del efecto vago cardíaco en la hipertireosis. Semejanza que existe entre este fenómeno y el producido por el curare. F. Hoffmann y E. J. de Hoffmann.
- SERIE C.—Poder colinesterásico del suero de animales normales e hipertireóticos. J. Talesnik y M. Jiménez.
- SERIE D.—Efecto del curare «in vivo» e «in vitro» sobre la actividad colinesterásica del suero. J. Talesnik.
- SERIE E.—Efecto de la inyección intraarterial adyacente de Acetilcolina sobre el músculo estriado de ratas normales e hipertireóticas. E. de Hoffmann y S. Middleton.
- SERIE F.—Respuesta a la estimulación indirecta del músculo gastrocnemio-sóleo de gatos y ratas normales e hipertireóticas. F. Hoffmann, E. J. de Hoffmann, S. Middleton y J. Talesnik.
- SERIE G.—Blocaje de la neurotransmisión mediante la infusión endovenosa de nicotina en animales normales e hipertireóticos. F. Hoffmann, E. J. de Hoffmann, S. Middleton y J. Talesnik.
- SERIE H.—Reacción del ganglio cervical superior, musculatura de la membrana nictitante y músculo recto superior del ojo de gatos normales e hipertireóticos frente a la Acetilcolina suministrada por vía endovenosa e intraarterial. Efecto de la estimulación de diversos nervios sobre el comportamiento del músculo recto superior del ojo en la hipertireosis. F. Hoffmann y E. J. de Hoffmann.
- SERIE J.—Reacción de corazones aislados de gatos normales e hipertireóticos frente a la Acetilcolina y otros fármacos. J. Talesnik y F. Hoffmann.
- SERIE K.—Resistencia mecánica de nervios aislados provenientes de animales normales e hipertireóticos. R. Beckdorff y F. Hoffmann.
- SERIE L.—Efecto de la suprarrenalectomía aguda sobre la respuesta, a la estimulación indirecta, de efectores adrenérgicos y colinérgicos. F. Hoffmann, S. Markovich y J. Talesnik.
- SERIE M.—Acción protectora del colesterol suministrado por vía bucal contra la intoxicación producida por la hormona tiroidea. F. Hoffmann y E. J. de Hoffmann.
- SERIE N.—Título histamínico de diversos órganos provenientes de animales normales e hipertireóticos. F. Hoffmann, E. J. de Hoffmann y H. H. de Middleton.

BIBLIOGRAFIA

- 1—ABDERHALDEN, E. & E. WERTHEIMER: *Z. exp. Med.*, 1929. 68, 1.
- 2—ABELIN, I. & P. KUERSTEINER: *Bioch. Z.*, 1928. 198, 19.
- 3—ABELIN, I. & K. MIYAZAKI: *Bioch. Z.*, 1924. 149, 109.
- 4—AIRD, R. E.: *Arch. Ophthalmol.*, 1940. 24 (6), 1167.
- 5—ALAM, M., G. V. ANREP, G. S. BARSOUM, M. TALAAT & E. WIENINGER: *J. Physiol.*, 1939. 95, 148.
- 6—ALBERTONI, P.: *Arch. ital. de Biol.*, 1916. 65, 63.
- 7—AMBACHE, N. & G. S. BARSOUM: *J. Physiol.*, 1939. 96, 139.
- 8.—I) ANREP, G. V., G. S. BARSOUM & M. Talaat: *J. Physiol.*, 1936. 86, 431.
II) ANREP, G. V., G. S. BARSOUM, M. TALAAT & E. WIENINGER: *J. Physiol.*, 1939. 96, 240.
- 9.—ANREP, G. V. & G. S. BARSOUM: *J. Physiol.*, 1935. 85, 409.
- 10.—ANTOPOL, W., L. TUCHMANN & A. SCHIFRIN: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1937. 36, 46.
- 11—AQUEVEQUE, G.: Tesis Médico-Cirujano Univ. de Chile. *Estudio Fisiofarmacológico de las formaciones ganglionares intracardíacas en el corazón aislado de guto.* (Inst. de Fisiol. Univ. de Chile, 1943).
- 12.—ASHER, L. & M. FLACK: *Z. Biol.*, 1910. 55, 83.
- 13—ASHER, L.: *Dtsch. med. Wschr.*, 1916. 1028.
- 14.—ASHER, L. & W. E. v. RODT: *Ztbl. Physiol.*, 1913. 26, 223.
- 15.—ASHER, L. & HONDA: *Bioch. Z.*, 1927. 185, 173.
- 16.—BELFANTI, S.: *Boll. Inst. Sieroretap.* Milanese, 1924, N.º 5.
- 16 a.—BENNETT, A. E. & P. T. CAST: *Arch. Neurol. & Psych.*, 1943. 49, 537.
- 17—BERGWALL, A. & G. KUSCHINSKY: *Arch. exp. Path. Pharm.*, 1931. 162, 169.
- 18—BEST, C. H. & J. CAMPBELL: *J. Physiol.*, 1936. 86, 190. 1938. 92, 91.
- 19—BEST, C. & E. W. MCHENRY: *J. Physiol.*, 1930. 70, 349.
- 20.—BEST, C. H., E. H. MAWSON, E. W. MCHENRY & J. H. RIDOUT: *J. Physiol.*, 1936. 86, 315.
- 21.—BEST, C. H., & J. H. RIDOUT: *J. Physiol.*, 1936. 86, 343.
- 22—BEST, C. H., CHANNON, J. & J. H. RIDOUT: *J. Physiol.*, 1934. 81, 409.
- 23.—BEST, C. H., G. C. FERGUSON & J. M. HERSHEY: *J. Physiol.*, 1933. 79, 94.
- 24.—BEST, C. H. & J. M. HERSHEY: *J. Physiol.*, 1932. 75, 49.
- 25—BEST, C. H., J. M. HERSHEY & M. E. HUNTSMAN: *Am. J. Physiol.*, 1932. 101, 7. *J. Physiol.*, 1932. 75, 57, 405.
- 26.—BOE, G.: *Bioch. Z.*, 1914. 64, 450.

- 27.—BOOTHBY, W. M., O. B. BUCKLEY & C. M. WILHELM: *J. Physiol.*, 1932. 74, 376.
- 28.—BOURNE, G.: *J. Physiol.*, 1939. 95, 12, P.
- 29.—BOYD, E. M. & W. F. CONNELL: *Wuart. J. Med.*, 1937. 6, 231, 467. 1939. 8, 41.
- 30.—BRAM, I.: *Exophthalmic Goiter*, 1936. Mosby, St. Louis.
- 31.—BRISCOE, G.: *J. Physiol.*, 1936. 87, 425.
- 32.—BROWN, G. L., H. H. DALE & W. FELDBERG: *J. Physiol.*, 1936. 87, 294.
- 33.—CANNON, W. B. y col.: *Am. J. Physiol.*, 1926. 77, 326.
- 34.—CANNON, W. B. & A. ROSENBLUETH: *Am. J. Physiol.*, 1940. 130, 219. 1940. 130, 205.
- 35.—CHAMBERLAIN, C. T., S. JACOBS & M. F. BUTLER: *Am. J. Med. Sci.*, 1936. 191, 66.
- 36.—CHANNON, H. J.: *Fat Metabolism* en «*Ann. Rev. Biochem.*», 1940. 9, 231.
- 37.—CICARDO, V. H.: «*Rev. Soc. Arg. Biol.*» 1939. 15, 12.
- 38.—COLLE, J., P. M. DUKE-ELDER & W. S. DUKE-ELDER: *J. Physiol.*, 1931. 71, 1.
- 39.—v. CYON, E.: *Pflugers Arch.*, 1898. 70, 126, 73, 42.
- 40.—DALE, H. H. & J. H. GADDUM: *J. Physiol.*, 1930. 70, 109.
- 41.—DALE, H. H. & H. S. GASSER: *J. Pharmacol.*, 1926. 29, 53.
- 42.—DANFORTH, D. N., R. R. GREENE & A. C. IVY: *Endocr.*, 1937. 21, 361.
- 43.—DAVIES, H. W., J. MEAKINS & J. SANDS: *Heart*, 1924. 11, 299.
- 44.—DESSY, G. & P. LATZER: *Boll. Inst. Sieroterap.* Milanese, 1928. Fascicolo V.
- 45.—DUKE-ELDER, W. S. & P. M. DUKE-ELDER: *Proc. Roy. Soc. Ser. B.*, 1930-31. 107, 332.
- 46.—DUKE-ELDER, W. S.: *Recent Advances in Ophthalmology*. J. & A. Churchill Ltd. London, 1934.
- 47.—DYE, J. A.: *Am. J. Physiol.*, 1935. 113, 265.
- 47 a.—EASON, J.: cit. seg. 89a.
- 48.—ELLIOT, T. R.: *J. Physiol.*, 1904. 31, 20 P.
- 49.—ELLIOT, T. R.: *J. Physiol.*, 1904. 31, XXI.
- 50.—ELMER, A. W., B. GIEDOSZ & M. SCHLEPS: *C. r. Soc. Biol.*, 1937. 125, 1082.
- 51.—ENTENMAN, C. & I. L. CHAIKOFF: *J. Biol. Chem.*, 1941. 138, 459.
- 52.—EPPINGER, H. & L. HESS: *Z. Klin. Med.*, 1909. 67, 345.
- 53.—EPPINGER, H. y col.: *Z. Klin. Med.*, 1908. 66, 1.
- 54.—FELDBERG, W.: *Histamine and Anaphylaxis* en «*Ann. Rev. of Physiol.*», 1941. 3, 671.
- 54 a.—FELDBERG, W.: *J. Physiol.*, 1940. 99, 104.
- 55.—FELDBERG, W., H. F. HOLDEN & C. H. KELLAWAY: *J. Physiol.*, 1938. 94, 232.
- 56.—FELDBERG, W. & C. H. KELLAWAY: *J. Physiol.*, 1937. 90, 257.
- 57.—FELDBERG, W. & C. H. KELLAWAY: *J. Physiol.*, 1937. 91, 2 P.
- 58.—FELDBERG, W. & C. H. KELLAWAY: *J. Physiol.*, 1938. 94, 187.
- 59.—FELDBERG, W. & B. HOLMES: *J. Physiol.*, 1941. 99, 3 P.
- 59 a.—FELDBERG, W., C. H. KELLAWAY & E. R. TRETHEWIE: cit. seg. Feldberg, W. *J. Physiol.*, 1940. 99, 104.
- 60.—FENG, E. & F. ZELL: *Z. exp. Med.*, 1937. 102, 32.
- 61.—FOSS, H. L., G. F. HUNT & R. M. McMULLAN: *J. Am. Med. Assoc.*, 1939. 113, 1090.
- 62.—FRANK, E., NOTHMANN, M. & HIRSCH-KAUFFMANN: *Pflugers Arch.*, 1922. 197, 270.
- 62 a.—GARDINER-HILL, H. *LANCET*, 1929. 1, 120.
- 63.—GAUNT, R. & H. W. HAYS: *Am. J. Physiol.*, 1938. 124, 767.
- 63 a.—GAUTRELET, J. & E. CORTEGGIANI: *C. r. Soc. Biol.*, 1939. 131, 951.
- 64.—GERARD, R. W. & J. WALLEN: *Am. J. Physiol.*, 1929. 89, 108.
- 65.—GERARD, R. W.: *Nerve Metabolism*, *Physiol. Rev.*, 1932. 12, 469.
- 66.—GILDEA, E. F., E. B. MAN & J. P. PETERS: *J. Clin. Invest.*, 1939. 18, 739.
- 67.—GOLDZIEHER, M.: *The Endocrine Glands*, 1939. D. Appleton-Century Co. New York-London.
- 68.—GOTCH, F.: *J. Physiol.*, 1910. 40, 250.
- 69.—GOTTA, H.: *El Corazón y la Circulación en los Hipertiroides*, 1938. «El Ateneo». B. Aires.

- 70.—COLTZ, F. R. & C. A. DRAGSTEDT: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1940. 45, 688.
- 71.—GRADINESCO, V.: cit. seg. *Ber. ges. Physiol. exp. Pharm.*, 1939. 113, 440.
- 72.—GRUMBRECHT, P. & A. LOESER: *Arch. exp. Path. Pharm.*, 1938. 189, 345.
- 73.—HALLIBURTON, W. D.: *Die Biochemie der peripheren Nerven*. Ergebnisse d. Physiol., 1904. 4, 23.
- 74.—HARRINGTON, C. R.: *The Thyroid Gland. Its Chemistry and Physiology*, 1933. Oxford Univ. Press, London.
- 75.—HARRIS, M. M. & R. S. HARRIS: *Pr. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1941. 46, 619.
- 76.—HARVEY, A. M. & R. L. MASLAND: seg. *Biol. Abstr.*, 1941. 21, 762.
- 77.—HERSHEY, J. M.: *Am. J. Physiol.*, 1930. 93, P. 657.
- 78.—HERSHEY, J. M. & S. SOSKIN: *Am. J. Physiol.*, 1931. 98, 74.
- 79.—HERRING, P. T.: *Quart. J. Exp. Physiol.*, 1917. 11, 47. *Endocr.*, 1920. 4, 577.
- 80.—HEWITT, J. A.: *Quart. J. Exp. Physiol.*, 1920. 12, 347.
- 81.—HOFFMANN, F.: «*Rev. Méd. de Chile*», 1936, N.º 5, 303.
- 82.—HOFFMANN, F.: «*Rev. Soc. Arg. Biol.*», 1942. 18, 225.
- 83.—HOFFMANN, F. & S. MIDDLETON: «*Rev. Méd. de Chile*», 1936, N.º 5, 308.
- 84.—HOFFMANN, F. & S. MIDDLETON: «*Rev. Méd. de Chile*», 1936, N.º 5, 320.
- 85.—HOFFMANN, F., M. URZÚA & B. ANDRADE: «*Rev. Méd. de Chile*», 1936, N.º 5, 330.
- 86.—HOSKINS, R. G.: *J. Am. Med. Assoc.*, 1910. 55, 1724.
- 87.—HURXTHAL: cit. seg. Cohen & Fierman. *Endocr.*, 1939. 22, 548.
- 88.—INGLE, D. J.: *Am. J. Physiol.*, 1938. 122, 302. 1939. 126, P. 543.
- 89.—INGLE, D. J.: *Endocr.*, 1942. 30, 246.
- 89 a.—JOLL, C. A.: *Diseases of the Thyroid Gland*. London, 1932.
- 90.—JONÁS, V.: «*Acta Méd. Scand.*», 1934. 82, 433.
- 91.—KAPLAN, A. & I. L. CHAICOFF: *J. Biol. Chem.*, 1937. 119, 435, 120, 647.
- 92.—KARÁDY, St.: *Z. exp. Med.*, 1936. 98, 13, cit. seg. *Ber. ges. Physiol. exp. Pharm.*, 1937. 100, 668.
- 93.—KEIL, F. C. & W. S. ROOT: *Am. J. Physiol.*, 1941. 132 437.
- 93 a.—KELLAWAY, C. H. & E. R. TRETHEWIE: *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.*, 1940. 18, 63.
- 94.—KINSELL, L. W., F. O. ZILLESSON, A. M. SMITH & J. PALMER: *Endocr.*, 1942. 30, 221.
- 94 a.—KOELSCH, cit. segun. Kendall *J. Am. Med. Assoc.*, 1935.
- 95.—KUHLE, G.: *Pflugers Arch.*, 1927. 215, 277.
- 96.—KWIATKOWSKI, H.: *J. Physiol.*, 1941. 100, 147.
- 97.—LAMBERT, E. H. & S. R. ROSENTHAL: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1940. 44, 235.
- 98.—LISSÁK, K.: *Am. J. Physiol.*, 1939. 127, 263.
- 99.—LISSÁK, K. & A. LANARI: *Am. J. Physiol.*, 1939-40. 128, 31.
- 100.—LISSÁK, K. E. W. DEMPSEY & A. ROSENBLUTH: *Am. J. Physiol.*, 1940. 128, 45.
- 101.—LOEB, L.: *Ann. Int. Med.*, 1935. 9, 13.
- 102.—LOESER, A.: *Kli. Wo.*, 1933. 12, 1614.
- 103.—LOGARAS, G. & J. C. DRUMMOND: *Bioch. J.*, 1939. 32, 964.
- 104.—LUCO, J. V.: *Am. J. Physiol.*, 1937. 120, 179.
- 105.—MAHAUX, J.: *C. R. Soc. Biol.*, 1939. 130, 77.
- 105 a.—MAN, E. B., E. F. GILDEA & J. P. PETERS: *J. Clin. Invest.*, 1940. 19, 43.
- 106.—MARKOVICH, S.: Tesis Médico-Cirujano Univ. de Chile. *Efecto de la Suprarrenalectomía sobre la Respuesta a la Excitación Indirecta de los Efectores Adrenérgicos y Colinérgicos*. (Inst. de Fisiol. Univ. de Chile, 1943).
- 107.—MATHEWS, A. P.: *Physiological Chemistry*, 1939. Baltimore. The Williams and Wilkins Co.
- 108.—MAUTNER, H. & A. LUISADA: *J. Pharm. exp. Ther.*, 1941. 72, 386.
- 109.—MAZZA, A.: *Riv. sper. di freniatr.*, 1929. 52, 505. cit. seg. *Ber. ges. Physiol. exp. Pharm.*, 1930. 52, 626.
- 110.—MCEACHERN, D. & W. D. ROSS: *Brain*, 1942. 65, 181.
- 111.—MCELDROY, J. S., E. B. SCHUMAN & J. O. RITCHEY: *Ann. Intern. Med.*, 1939. 12, 106.

- 112.—MCQUEEN-WILLIAMS, M.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1934. 32, 296.
- 113.—MELTZER, S. J. & CL. MELTZER-AUER: *Am. J. Physiol.*, 1904. 11, 28, 37, 49. *Zbl. Physiol.*, 1904. 17, 621, 652.
- 114.—MOEHLIG, R. C.: *J. Am. Med. Ass.*, 1940. 115, 123.
- 115.—MORGENROTH & REICHER: *Berl. klin. Wschr.*, 1907, pág. 1200. cit. seg. Bang. I. *Chemie und Biochemie der Lipide*, 1911. J. F. Bergmann, Wiesbaden.
- 116.—NAFFZIGER, H. C. & O. W. JONES: *J. Am. Med. Assoc.*, 1932. 99, 638.
- 117.—NETER, E.: *Arch. exp. Path. Pharm.*, 1934. 174, 416.
- 118.—NICHOLSON, H. C. & W. Y. TAKAHASHI: *Am. J. Physiol.*, 1942. 137, 331.
- 119.—OBATA, H.: cit. seg. *Ber. ges. Physiol. exp. Pharm.*, 1931. 58, 547. 60, 453.
- 120.—OBREGIA, A.: *C. r. Soc. Biol.*, 1921. 84, 1024.
- 121.—PAGE, I.: *The Chemistry of the Brain*, 1937. Ch. Thomas, Baltimore-Maryland, pág. 49.
- 122.—PERLMAN, I. & I. L. CHAIKOFF: *J. Biol. Chem.*, 1938. 127, 211. *J. Biol. Chem.*, 1939. 128, 735.
- 123.—PFEIFFER, C. A. & C. W. HOOKER: *Am. J. Physiol.*, 1940. 131, 441.
- 124.—RAVIN, A.: *Ann. Intern. Med.*, 1937. 11, 302.
- 125.—REED, L. L., W. E. ANDERSON & L. B. MENDEL: *J. Biol. Chem.*, 1932. 96, 313.
- 126.—REMESOW, I.—*Pflug. Arch.*, 1929. 221, 534.
- 127.—RICHARDSON, J. S.: *seg. Ber. ges. Physiol. exp. Pharm.*, 1939. 114, 98.
- 128.—RIDEAL, E. K. & J. H. SCHULMAN: *Nature*, 1939. 144, 100.
- 129.—ROCCA, R. & A. FALCONE: *seg. Biol. Abstr.*, 1943. 17, (5) 1187.
- 130.—ROGOFF, J. M. & G. M. STEWART: *Am. J. Physiol.*, 1928. 86, 20.
- 131.—ROSE, B. & J. S. L. BROWNE: *Am. J. Physiol.*, 1941. 131, 589.
- 132.—ROSENBLUETH, A.: *The Present Status of the Problem of Synaptic Transmission at Autonomic Ganglia*. «Ann. Rev. Physiol.», II, 1940. 271.
- 133.—ROSENBLUETH, A. & E. W. DEMPSEY: *Am. J. Physiol.*, 1939-40. 128, 19.
- 134.—ROSENBLUETH, A. & J. LUCO: *Am. J. Physiol.*, 1937. 120, 781.
- 135.—ROSENBLUETH, A. & R. S. MORISON: *Am. J. Physiol.*, 1937. 11, 236.
- 136.—RUBILAR, L.—Tesis Médico-Cirujano Univ. de Chile. *Sensibilidad, frente a la Adrenalina de los corazones de ratones normales e hipertiréuticos*. (Inst. de Fisiol. Univ. de Chile, 1941.)
- 137.—SCHACHTER, R. J. & J. HUNTINGTON: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1940. 44, 66.
- 138.—SCHELLING, R.: *Dissertation*, 1938. Tübingen. cit. seg. *Ber. ges. Physiol. exp. Pharm.* 1939. 112, 163.
- 139.—SCHMECHEIBER, M. M.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1934. 31, 770.
- 140.—SECKER, J.: *J. Physiol.*, 1938. 94, 259. 1939. 95, 282.
- 141.—SHAPIRO, S. & D. MARINE: *Endocr.*, 1921. 6, 699.
- 142.—SHEN, G. S. & W. B. CANNON: cit. seg. «Ann. Rev. Physiol.», 1939. pág. 428.
- 143.—SMITH, D. C. & J. M. PERMAN: *Endocr.*, 1940. 27, 110.
- 144.—SQUIER, T. L. & G. P. GRABFIELD: *Endocr.*, 1922. 6, 85.
- 145.—STEWART, H. J. & W. F. EVANS: *Am. Heart J.*, 1940. 20, 715. 1942. 23, 175.
- 146.—SWINGLE, W. W. y col.: *Am. J. Physiol.*, 1938. 124, 22. 1941. 132, 249. 1941. 134, 426, 503. 1942. 136, 567, 138, 362. *Endocr.*, 1941. 29, 740. 1942. 30, 692.
- 146 a.—TALESNIK, J.: Tesis Médico-Cirujano Univ. de Chile. *Estudio Fisiológico de la Circulación Coronaria en la Preparación corazón-pulmón de perro*. (Inst. de Fisiol. Univ. de Chile, 1941.)
- 147.—TSUKAMOTO, R.: *Bioch. Z.*, 1924. 145, 116.
- 148.—TURNER, K. B., C. H. PRESENT & E. H. BIDWELL: *J. exp. Med.*, 1938. 67, 111.
- 149.—TUTAJEW, G. W.: *Z. Biol.*, 1931. 91, 496.
- 150.—VIETS, H. R., R. SCHWAB & M. A. B. BRAZIER: *J. Am. Med. Ass.*, 1942. 119, 236.
- 150 a.—WATSON, E. M.: *Endocr.*, 1938. 22, 528.
- 151.—WINTERSTEIN, H.: *Handb. d. norm. u. path. Physiol.*, 1929, ix, 365. *Der Stoffwechsel des peripheren Nervensystems* y pág. 515: *Der Stoffwechsel des Zentralnervensystems*.

- 152.—WITTE, G.: 1936, Dissert. Hamburgo. *Über die Resorption von Cholesterin aus dem menschlichen Darm.*, cit. seg. Ber. ges. *Physiol., exp. Pharm.*, 1938. 105, 96.
- 153.—WOLF, W.—*Endocrinology in Modern Practice*, 1937. W. B. Saunders Co. Philadelphia & London.
- 154.—YOUNG, W. B.: *Am. J. Physiol.*, 1938. 123, 424.
- 155.—ZIMMERMANN, F.—*Bioch. Z.*, 1929. 206, 369.
- 156.—ZONDEK, H. & G. KOEHLER: *Handb. norm. path. Physiol.*, 1930, 16, I, 669.
- 157.—ZUNZ, E. & J. LA BARRE: seg. Ber. ges. *Physiol. exp. Pharm.*, 1933. 72, 336.
- 158.—ZWEMER, R. L.: *Am. J. Physiol.*, 1927. 79, 658.
- 159.—ZWEMER, R. L., B. E. LOWENSTEIN & K. L. PINES: *Endocr.*, 1940. 27, 945.

BIBLIOTECA NACIONAL
SECCION CHILENA

