

*Publicat originalment al vol. 16 (1934), p. 455-462*

## **SOBRE L'EXISTÈNCIA D'UN FACTOR QUE AUGMENTA LA PERMEABILITAT DELS TEIXITS EN ALTRES ÒRGANS QUE EL TESTICLE**

ALBERT CLAUDE I FRANCESC DURAN-REYNALS

*The Rockefeller Institute for Medical Research, Nova York*

En una publicació anterior es descrigué un efecte d'exaltació de la infecció amb extracte testicular. Aquesta propietat la presenten també extractes d'alguns altres òrgans, però en un grau considerablement menor (Duran-Reynals, 1928, 1929; Duran-Reynals i Suñer-Pi, 1929; Pijoan, 1931; Hoffman, 1931). Com que posteriorment es veié que el poder exaltador de l'extracte testicular anava associat a una modificació de la permeabilitat cutània (Hoffman i Duran-Reynals, 1930, 1931; McClean, 1930), s'ha provat la capacitat relativa de provocar aquest efecte que tenen extractes de diferents òrgans.

La dissociació entre les accions *difusora* i *exaltadora* (Duran-Reynals, 1933) que s'observà amb certs extractes tumorals, i la necessitat de trobar on existeix el factor difusor en l'organisme, ens portaren a emprendre un estudi sistemàtic d'extractes de diferents teixits, mitjançant l'estudi de la difusió de les partícules de tinta xinesa en la pell del conill. També es considerà una investigació així, un preliminar indispensable de l'estudi de la fisiologia del factor o factors, i del mecanisme de llur acció.

### **MÈTODE**

S'utilitzaren conills adults d'ambdós sexes. Els extractes es prepararen molent òrgans recentment extirpats amb sorra, i 1, 1/5 i 2 volums de solució de Ringer o d'aigua. Les suspensions se centrifugaren i s'injectà 0,5 cc del líquid tèrbol sobreendant per via intradèrmica en els costats de conills, junt amb 0,25 cc de tinta xinesa Híggins, diluïda 1:2. Sempre es practicà, al mateix animal, una injecció de control de 0,50 cc de solució de Ringer o d'aigua, més 0,25 cc de la tinta. La difusió de la tinta es mesurava una i vint-i-quatre hores després de la injecció. En alguns casos es practicà la precipitació de l'extracte tissular amb quatre volums d'acetona, extraient el residu amb quantitats variables d'aigua, amb l'esperança de purificar i de concentrar el factor. La tècnica, que havia estat molt eficaç en el cas de l'extracte testicular, no donà millors resultats que l'ús de l'extracte fresc.

### **EXPERIMENTS**

Es portaren a cap aproximadament cent vint proves, i cada prova comprenia l'ex-

TAULA 1. Presència del factor difusor en diferents òrgans de mamífers

Òrgan l'extracte del qual es provava	Nre. de proves	Mitjana de difusió de 0,5 cc d'extracte d'òrgan més 0,25 cc de dilució de tinta xinesa	Mitjana de difusió de 0,5 cc de sèrum fisiològic més 0,25 cc de dilució de tinta xinesa	Raó de la difusió a la difusió de control	Casos positius amb difusió augmentada
Pulmó de conill	7	27,3	7,2	3,8	100
Melsa de conill	7	18,1	7,2	2,5	100
Fetge de conill	7	8,5	7,1	1,2	42
Ronyó de conill	10	17,6	7,2	2,4	80
Ovari de conill	2	20,4	4,1	5,0	100
Placenta de conill	2	22,0	9,0	2,4	100
Cervell de conill	10	10,4	5,3	1,9	90
Pell de conill	4	10,1	6,5	1,5	100
Sèrum sanguini de conill	15	9,8	10,9	0,9	0
Múscul estriat de conill	3	3,2	5,4	0,6	0
Testicle de conill	9	55,6	5,8	9,8	100
Pulmó de rata	2	20,3	7,8	2,6	100
Melsa de rata	5	24,2	7,4	3,2	100
Fetge de rata	5	26,7	7,4	3,6	80
Ronyó de rata	5	18,6	7,4	2,5	100
Cervell de rata	4	14,5	6,6	2,2	100
Sèrum sanguini de rata	2	7,8	7,8	1,0	0
Testicle de rata	10	20,4	5,8	6,9	100
Pulmó de cobai	2	17,0	6,1	2,7	100
Melsa de cobai	2	11,0	5,0	2,2	100
Fetge de cobai	2	17,5	5,0	3,5	100
Ronyó de cobai	2	9,0	5,1	1,7	100
Sèrum sanguini de cobai	1	6,8	6,8	1,0	0
Timus de vedella	1	12,0	4,0	3,0	100
Placenta humana	1	9,0	4,0	2,2	100
Sèrum humà	7	7,4	7,0	1,0	0

tracte total d'un òrgan o, en el cas d'alguns extractes, dels òrgans aixafats de setze individus diferents (rates). Per a poder comparar s'incloueren els resultats de mitjana amb extracte testicular. Els resultats es resumeixen en la taula 1. Demostren d'una manera ben clara l'existència de factors difusors en tots els òrgans estudiats, si bé en una proporció molt inferior a la que es troba en el testicle, a jutjar per les difusions de la tinta xinesa. Els extractes de múscul es-

triat constitueixen potser una excepció a la regla. En una prova resultaren inactius.<sup>1</sup> Els sèrums sanguinis foren sempre negatius.

Les diferències quantitatives en factor difusor dels extractes estudiats es posaren en relleu per la dilució. Mentre l'extracte testicular augmenta, la difusió de la tinta en diluir-se a 1:400 (la màxima dilució estudiada), els extractes d'altres òrgans no foren ja actius a 1:10, i solament en el cas

TAULA 2. Progressió de la difusió amb extractes de diferents òrgans

	Lectures després d'una hora		Lectures després de vint-i-quatre hores	
	Àrea de difusió (cm <sup>2</sup> )	Densitat de difusió	Àrea de difusió (cm <sup>2</sup> )	Densitat de difusió
Solució de Ringer més tinta xinesa (control)	4,1	±	4,2	±
Extracte esplènic	14,6	+++	29,0	+++
Extracte pulmonar	9,0	+	36,9	+++
Extracte de ronyó	8,1	+++	17,6	+++
Extracte de cervell	6,2	++	10,5	++
Extracte hepàtic	8,4	++	8,0	++
Extracte muscular	4,4	+	4,9	+
Extracte testicular (mitjana de nou proves)	19,4	++++	55,6	++++

dels extractes pulmonar i esplènic s'observà alguna difusió en una dilució d'1:5.

Una altra diferència entre l'extracte testicular i els d'altres òrgans consistia en la manca de regularitat en la producció de factor difusor que aquests presentaven, contrastant amb la perfecta constància del primer, en aquest punt. Això s'indica en la darrera columna de la taula 1 i és especialment exacte per al fetge. Els extractes de pulmó i de melsa, si bé fluctuant quant a producció, presenten sempre certa activitat difusora.

La difusió provocada pels extractes de diferents òrgans fou anàloga a l'obtinguda amb extracte testicular, però es presentava amb molta més lentitud. No obstant això, els extractes de melsa i de pulmó provocaren, en certs casos, una difusió considerable en l'hora següent a la injecció. En general, però, la quantitat de tinta distribuïda per l'àrea en la qual tenia lloc la difusió era molt menys gran que en el cas de l'extracte testicular. Les àrees de difusió, quan s'emprava extracte testicular, tenien sempre un aspecte enfosquit per la tinta, mentre que la pell, la modificació de la qual per part dels extractes d'altres òrgans posava de manifest la difusió de les partícules de tin-

ta, era generalment més clara. Un altre detall que s'ha d'esmentar és que l'engruiximent de la pell (degut probablement a l'edema) era major en el cas d'aquests darrers. La pell tractada amb extracte testicular no s'inflava. Alguns d'aquests punts es posen de relleu en la taula 2, en la qual es consignen les àrees i la densitat de les difusions produïdes per extractes preparats amb els òrgans d'un mateix conill, registrades una i vint-i-quatre hores després de la injecció.

Resumint, podem afirmar que, pràcticament, cada un dels dotze òrgans estudiats conté, en quantitats que varien àmpliament, factors que augmenten la permeabilitat tissular, segons ho demostra la difusió de la tinta xinesa, i que el testicle i l'epidídim, el pulmó i la melsa semblen ésser els més actius.

S'ha investigat el possible paper del testicle com a determinant de la presència del factor difusor en els altres òrgans. S'ha vist que la propietat d'augmentar la permeabilitat tissular persistia després de la castració. Els resultats obtinguts amb òrgans de rates provats cinc setmanes després de la castració s'han inclòs en la taula. Aquestes observacions indiquen que el factor difusor

és un component constant d'aquests òrgans.

## COMENTARI

Els resultats d'aquesta investigació demostren clarament l'existència, gairebé en cada òrgan provat, d'un factor que augmenta la permeabilitat tissular. En un treball previ es demostrà que els extractes dels mateixos òrgans posseeixen la propietat d'exaltar les lesions bacterianes i les lesions per virus (Duran-Reynals, 1928, 1929; Duran-Reynals i Suñer-Pi, 1929; Pijoan, 1931; Hoffman, 1931). En el cas d'extractes testiculars (Hoffman i Duran-Reynals, 1930, 1931; McClean, 1930) i de bacteris invasors (Duran-Reynals, 1933) es trobà una correlació directa entre el grau de difusió i la intensitat del poder exaltant. Aquestes observacions permeten de pensar que pugui existir la mateixa correlació en la majoria d'òrgans estudiats. Es necessiten més experiments per a provar aquesta suposició. La recolza que cert compostos nitrogenats que són agents difusors actius, exalten també i augmenten la grandària de les lesions infeccioses (Claude, 1933). Amb tot, s'ha de citar que els extractes esplènics no solament no exalten les lesions estafilocòcciques o vacunals, sinó que, de vegades, presenten una acció inhibidora definida. També s'ha trobat una dissociació anàloga de les propietats exaltadora de les infeccions i augmentadora de la permeabilitat tissular en el cas d'alguns melanomes (Duran-Reynals i Stewart, 1931). De la mateixa manera, extractes de certes formacions sarcomatoses trasplantables no exalten les lesions infeccioses, tot i ésser riques en factor difusor. Aquests casos indiquen que en els extractes tissulars hi havia un agent antiinfecció, a més de l'agent difusor.<sup>2</sup> Per aquesta raó, considerem la prova de per-

meabilitat més digna de confiança per al reconeixement del factor en els extractes d'òrgans que el mètode original de producció de lesions. El sèrum sanguini està completament desproveït de poder exaltador o de poder difusor.

Estem treballant actualment sobre la relació química existent entre el factor testicular i el factor obtingut d'altres òrgans. També s'estudia la possibilitat de variacions qualitatives o quantitatives en diferents períodes del cicle de la vida.

## RESUM

S'ha vist que molts dels òrgans d'animals d'ambdós sexes, incloent l'ovari, contenen, en proporcions diverses, un factor o factors que augmenten la permeabilitat tissular. El poder d'aquests extractes actius era sempre menor que el dels extractes testiculars. S'ha vist que el sèrum sanguini està absolutament desproveït de cap poder difusor.

## BIBLIOGRAFIA

- CLAUDE, A. (1933). *Science*, 78: 151.  
 DURAN-REYNALS, D.; STEWART, F. W. (1931). *Amer. Journ. Cancer*, 15: 2790.  
 DURAN-REYNALS, F. (1928). *C. R. de la Soc. de Biol.*, 99: 6.  
 — (1929). *Journ. Exp. Med.*, 50: 327.  
 — (1933). *Journ. Exp. Med.*, 58: 161.  
 DURAN-REYNALS, F.; SUÑER-PI, J. (1929). *C. R. de la Soc. de Biol.*, 99: 1908.  
 FELTON, L. D. (1932). *Journ. Exp. Med.*, 56: 13.  
 HOFFMAN, D. C. (1931). *Journ. Exp. Med.*, 53: 43.  
 HOFFMAN, D. C.; DURAN-REYNALS, F. (1930). *Science*, 72: 508.  
 — (1931). *Journ. Exp. Med.*, 53: 387.  
 MCCLEAN, D. (1930). *Journ. Path. and Bact.*, 33: 1045.  
 PIJOAN, M. (1931). *Journ. Exp. Med.*, 53: 37.  
 SPINELLI, A. (1932). *Riv. Patol. Sper.*, 9: 203.

## NOTES

1. Spinelli (1932) ha trobat també un poder difusor en els extractes tiroïdals. Els extractes musculars, agafats com a controls, foren inerts en vuit proves sobre quinze. Els extractes testiculars foren sempre actius.
2. A favor d'aquest punt de vista podem aduir el fet que, mentre els extractes preparats amb testicle immune per al virus vacunal retenen encara, amb la mateixa intensitat que els de testicle normal, el poder d'augmentar la permeabilitat normal, no exalten les lesions per virus i, en realitat, les suprimeixen. L'extracte de testicle immune pot haver difós la suspensió vacunal en una gran àrea, però ha fet difondre un material inactivat. Val la pena d'esmentar respecte a aquest punt, que Felton (1932) ha augmentat la virulència del pneumococ mitjançant transferències automàtiques en medi pulmonar i l'ha disminuït mitjançant transferències similars en medi esplènic.

## SOBRE ELS AUTORS

**Albert Claude** (Longlier, Bèlgica, 1898 - Brusselles, Bèlgica, 1983). Llicenciat en medicina per la Universitat de Lieja el 1928. Va treballar el 1928-1929 a Berlín, primer a l'Institut für Krebsforschung, i després al Kaiser Wilhelm Institute, Dahlem, al laboratori de cultius de teixits del professor Albert Fischer. Es traslladà al Rockefeller Institute a l'estiu de 1929, on mantingué lligams sempre més. Allí va treballar amb Duran i Reynals als anys trenta. Fou director del Jules Bordet Institute for Cancer Research and Treatment, i professor emèrit de la Facultat de Medicina de la Universitat de Brusselles. També fou professor a la Rockefeller University, a Nova York, i a la Universitat Catòlica de Lovaina, a Bèlgica, on ocupà el càrrec de director del Laboratoire de Biologie Cellulaire et Cancérologie. Mentre era afiliat a l'esmentada universitat, el 1974, juntament amb Christian de Duve i George E. Palade, va guanyar el

Premi Nobel de Fisiologia o Medicina per «les seves descobertes relacionades amb l'organització estructural i funcional de la cèl·lula».

**Francesc Duran i Reynals** (Barcelona, 1899 - New Haven, EUA, 1958). Es doctorà a Barcelona el 1925, i fou deixeble d'August Pi i Sunyer. Féu pràctiques d'investigació a l'Institut de Fisiologia i al Laboratori Municipal, dirigit per Ramon Turró, i fou membre de la Societat Catalana de Biologia. Les seves primeres investigacions foren sobre anafilaxi, i fou un dels primers que es dedicaren professionalment a la investigació mèdica a Catalunya. Treballà, becat (1925), a l'Institut Pasteur de París i aconseguí d'aïllar la hialuronidasa, factor de difusió infecciosa anomenat *factor Duran i Reynals*. El 1928 es traslladà als EUA, convidat per la Fundació Rockefeller, on treballà a l'Institut Rockefeller for Medical Researches de Nova York. A partir del 1938 dirigí un laboratori d'investigació a la Universitat de Yale (New Haven). Els seus treballs sobre la relació entre virus i càncer li donaren un gran renom. El 1952 fou nomenat catedràtic de lliçons magistrals i director d'investigacions d'aquesta universitat. El 1957 assistí al congrés de cancérologia de Chicago, on defensà la seva aportació fonamental sobre l'etiologia vírica del càncer. L'any següent morí, colpit per aquesta malaltia. Guanyà diversos premis, entre els quals el de l'American Association for Cancer Research i el premi a la investigació mèdica atorgat per la Fundació Ann Fuller, i també fou nomenat doctor *honoris causa* pel Hahnemann College de Filadèlfia (EUA). Entre les seves recerques, cal remarcar *Virus Infection as an Etiological Agent of Cancer* (1945), *Realities and Hypothesis of Viral Infection as Cause of Cancer* (1956), *The Physiopathology of Cancer* i *El fenómeno de la actividad hemorrágica tumoral*, Premi Vidal de l'Academia de Medicina

Española. El 1971, amb motiu del Cinquè Congrés Internacional de Bioquímica (Barcelona, 1971), fou editat *Virus y Cáncer*, re-

cull dels seus treballs més importants. Fou membre corresponent de l'Institut d'Estudis Catalans (1947).