

debidas condiciones un ovario en un macho normal, el experimento puede presentar en sus resultados las siguientes posibilidades: 1.º *el injerto no arraiga*; 2.º *el injerto arraiga, pero queda inactivo*. En este segundo caso pueden ocurrir dos cosas: a) que el ovario quede inactivo por presentar un desarrollo folicular deficiente; b) que el ovario quede inactivo, pero con pleno desarrollo folicular. 3.º *El injerto resulta activo, pero el tiempo de latencia es prolongado*. Entendemos por tiempo de latencia el que transcurre desde el injerto hasta que se comprueban las manifestaciones hormonales mamarías; este espacio de tiempo corresponde al establecimiento de relaciones vasculares y al desarrollo de los folículos. El tiempo de latencia suele ser de unas cuatro semanas si se practica el injerto en un animal castrado y de cuatro a ocho meses cuando el injerto se hace en un animal que tenga un solo testículo. 4.º *El ovario se muestra activo y el tiempo de latencia es corto* (de 3 a 5 semanas).

La explicación de estos resultados puede resumirse así: en el caso 1.º hay antagonismo hormonal de STEINACH; el caso 2.º a) (desarrollo folicular deficiente por el mecanismo de SAND o sea por aporte nutritivo y hormonal insuficiente; en el resultado 2.º b) (ovario inactivo con desarrollo folicular) se producen indudablemente hormonas ováricas, pero éstas no pueden actuar por impedírsele la presencia simultánea de las hormonas testiculares que actúan en sentido opuesto; es el caso de la competencia periférica de las hormonas.

Hay que advertir que con un 1 por 100 que dejemos de la substancia testicular al practicar la castración, si luego injertamos ovario, se manifiestan aún los caracteres sexuales masculinos. Esto explica que en clínica lesiones masivas del testículo (tuberculosis testicular) no se acompañen de desaparición de los caracteres sexuales secundarios masculinos. En los casos en que el injerto ovárico tiene más potencia que el testículo o fragmento de testículo que quedó en el animal, persisten los caracteres masculinos durante el tiempo de latencia hasta que después se produce el predominio de los caracteres femeninos sin que por ello desaparezca ni se reabsorba el fragmento testicular; lo que sucede es que en la competencia periférica hormonal predomina el ovario. Este predominio puede favorecerse mediante factores extragonadales por injerto o inyección de extractos hipofisarios.

Por último la mejor prueba del antagonismo hormono-se-

xual nos la dan los experimentos ideados por nosotros y que hemos denominado de desalojamiento. Si se practica el injerto ovárico y éste prende, pero se muestra inactivo, basta extirpar el testículo del animal injertado para que el ovario entre en plena actividad. Esto no puede ser debido más que a la existencia de substancias antagonicas testiculares que impiden la actividad ovárica. En las experiencias de desalojamiento los fenómenos de actividad ovárica (turgescencia de las mamas) se manifiestan ya a las 36 horas de extirpado el testículo. El desalojamiento ha resultado positivo aun en casos en que se extirpó el testículo a los cinco meses de injertado el ovario.

Fenómenos de antagonismo hormonal se manifiestan espontáneamente en ciertas especies animales. En los batracios el sapo macho posee un órgano rudimentario genital que si se extirpa el testículo se desarrolla y convierte en un ovario típico; tanto es así que en sapos machos castrados se ha observado la transformación total en hembras con producción de puesta ovular y crecimiento de las crías de ellas precedentes. En las aves existe un solo ovario, el izquierdo, presentando en el lado derecho un órgano sexual rudimentario. En la gallina castrada este rudimento se transforma aun en un testículo; el estado rudimentario se debe pues, al antagonismo hormonal de la gónada derecha.

La aplicación de todos estos conocimientos al hermafroditismo natural y a los estados intersexuales tropieza con serias dificultades. Así hay casos de intersexualidad ginandromórfica natural en que existen solamente ovarios los cuales si se injertan a otro animal producen una feminización típica y sin embargo en su animal de origen se presentan caracteres sexuales masculinos. En estos casos habría que pensar en la influencia de factores extragonadales desconocidos y que no se sabe de dónde proceden.

Por todo lo expuesto puede comprenderse fácilmente que el estudio de la endocrinología sexual tiene enorme importancia médica y biológica puesto que la morfogénesis animal depende en gran parte de estos factores. Muchos puntos aún oscuros de la herencia y evolución de las especies han de ser dilucidados seguramente cuando se perfeccionen nuestros conocimientos actuales sobre las producciones hormonales de las gónadas.

LA SUPERVIVENCIA DE LA CÉLULA OVULAR FUERA DEL ORGANISMO

Resumen de la Conferencia dada en la Real Academia de Medicina,
de Madrid

por el doctor

A. LIPSCHÜTZ

La explantación ovárica se había intentado ya hace años con resultados negativos. Las experiencias se habían practicado entonces conforme a las reglas generales de los métodos de CARREL. El fracaso sufrido en la explantación ovárica llevó a los autores a abandonar estos estudios y en lo sucesivo únicamente se prestó atención a los experimentos de trasplatación.

El estudio de la dinámica del injerto ovárico es muy interesante. Cuando se trasplanta un ovario de un animal a otro, los folículos secundarios y terciarios en vías de desarrollo degeneran y ninguno de ellos llega al término de su evolución. Son únicamente los folículos primordiales que aún no han comenzado su desarrollo, los que sobreviven y posteriormente entran en evolución.

En los primeros experimentos de trasplatación ovárica, los ovarios desde que se extirpaban del animal donante hasta

injertarlos al portador eran refrigerados y conservados a temperaturas de doce grados bajo cero. En tales trasplataciones los resultados fueron constantemente negativos y nunca pudo comprobarse la supervivencia del ovario injertado.

Bien es verdad que en algunos rarísimos casos humanos clínicamente pareció manifestarse la actividad del injerto, pero, sin prueba histológica de su supervivencia, es posible que los buenos resultados clínicos pudieran obedecer a la absorción de los autolisados del ovario en vías de degeneración. En los animales los resultados fueron constantemente negativos.

Esto nos llevó a pensar que quizás la refrigeración excesiva fuera la causa del fracaso e ideamos conservar los ovarios simplemente sobre hielo con lo cual la temperatura del órgano se mantiene, de uno a dos grados sobre cero. De esta manera pudimos obtener un crecido número de resultados positivos

aun con ovarios que llevaban hasta dos semanas fuera del organismo. En resumen, los resultados obtenidos pueden compararse en términos generales del siguiente modo:

	N.º de éxitos
Trasplatación inmediata de ovarios frescos ...	86 %
Ovarios conservados durante tres o cuatro días a temperatura de 1 a 3 grados sobre 0 ...	50 %
Ovarios conservados de 1 a 3 grados sobre 0 durante 7 a 15 días ...	22 %
Ovarios conservados a la misma temperatura durante tres semanas o aún más ...	0
Ovarios refrigerados a menos 12º ...	0

Si ahora observamos el ulterior funcionamiento de los ovarios arraigados, veremos que algunos de ellos entran ulteriormente en regresión y llegan a perder su funcionalismo al cabo de cierto tiempo. La proporción de los que regresionan varía también, según haya sido el modo de hacer la trasplatación.

	Ovarios que regresionan
De los injertados frescos ...	6 %
De los conservados 4 días a 3º ...	50 %
De los conservados 15 días a 3º ...	65 %
El tiempo de latencia de los ovarios injertados es también	

más largo para los injertados después de varios días de conservación. Así, en los trasplataados frescos suele ser de 10 días a 4 semanas, mientras que en los conservados oscila entre seis y ocho semanas.

En resumen si la trasplatación se hace con ovarios que hayan permanecido fuera del organismo durante algún tiempo se observan: menos casos seguidos de éxito; menos supervivencia (mayor número de regresiones); más tiempo de latencia.

Como quiera que sea, todas las anteriores observaciones nos prueban un hecho: la posibilidad de conservar el ovario durante algún tiempo privado de sus conexiones orgánicas, sin que por ello desaparezca la propiedad generativa de los óvulos. Estos pueden comportarse como verdaderas semillas que conservan latentes sus propiedades germinativas.

Los experimentos practicados con ovarios conservados en frío (de 1 a 3º sobre 0), pueden también resultar positivos con ovarios conservados a su temperatura de pieza (unos 18º C.)

La comparación del óvulo con una semilla nos sugirió fecundas ideas. Así como sobre las semillas vegetales se hacen actuar distintos agentes estudiando después las modificaciones que a consecuencia de ellos pueden originarse en la capacidad germinativa de las semillas, también pueden intentarse análogas observaciones sobre el óvulo conforme lo hemos hecho nosotros.

Influencia del frío sobre el óvulo.—Ya hemos dicho los resultados que se obtienen injertando ovarios conservados sobre hielo. El hecho de que el tiempo de latencia sea mayor si se injerta un fragmento pequeño de ovario fresco, debido a que en él hay un menor número de células activas, nos llevó a pensar por analogía que quizás en los ovarios refrigerados

se disminuye también el número de células que conservan su actividad. Para comprobar esta hipótesis ideamos el experimento siguiente: Un ovario recién extirpado se divide en sus dos mitades; una mitad se examina histológicamente inmediatamente; la otra se guarda sobre hielo y se hace su examen histológico al cabo de unos días. Resultados: en la mitad recién extirpada todos los folículos primordiales—únicos que nos interesan—, aparecen normales; en la mitad conservada un gran número de ellos han degenerado y su núcleo presenta fenómenos de picnosis.

El estudio del metabolismo de los ovarios aislados es también interesante. Si se mide el consumo de oxígeno de los ovarios se ve que éste es de 20 veces menor en los ovarios conservados sobre hielo que en los que se guardan a su temperatura de pieza. En cambio en estos últimos el grosor límite es relativamente menor. Entendemos por grosor límite el máximo volumen del órgano o fragmento de órgano, compatible con la conservación de su metabolismo normal. De modo que el ovario conservado en frío puede ser mayor que el de la pieza conservada a 18º. Esto nos lleva a admitir que el menor consumo de oxígeno de la pieza enfriada es sin embargo el normal que corresponde a la temperatura en que se halla la pieza.

A menos 12 grados el metabolismo reaparece. Sin embargo, en el caso de que el ovario permanezca más de 24 a 36 horas a menos 12 grados el metabolismo ya no se reanuda al elevarse la temperatura: el ovario ha muerto, aun cuando en el examen histológico presente su aspecto normal. Debe tratarse de una destrucción bioquímica.

Análoga destrucción ovárica se consigue por la trituración mecánica en un mortero.

Estos efectos destructivos de las bajas temperaturas sobre el ovario de los mamíferos parecen estar en oposición con los resultados obtenidos por autores norteamericanos con huevos de gallina, que habiendo sido conservados durante varios días a 10º, son luego fecundos en la incubadora. Nosotros, para investigar este fenómeno, hemos podido observar que en ellos hay fenómenos de sobreenfriamiento y que en las capas centrales del huevo no llega a congelarse la yema ni pasa la temperatura de 4º.

Es posible que en el óvulo de los mamíferos lo que produzca su muerte sea la formación de pequeños cristales de hielo en el interior de su masa.

Influencia de la desecación.—La supervivencia de animales desecados durante años, es un hecho de antiguo conocido. ¿Puede ser compatible la desecación con la supervivencia ovárica? Nosotros hemos introducido ovarios en la atmósfera de desecadores conteniendo cloruro de calcio y hemos podido observar que ovarios que han perdido un 20 a 40 por ciento de su peso de agua se muestran aún activos al injertarse. En algunos lotes este arraigamiento del injerto se produjo en un 90 por ciento de los ovarios desecados. En otras series de experimentos obtuvimos un 65 por ciento de éxitos.

El estudio histológico de los ovarios parcialmente desecados prueba que aún quedan en ellos un cierto número de folículos aptos para su desarrollo. Si la desecación llega a un 60 por ciento de la masa ovárica, el ovario no sobrevive.

Todo lo anteriormente expuesto abre el camino de estas investigaciones en el cual pueden verse para lo por venir grandes y fecundos descubrimientos.