

# L'EQUILIBRI D'ÒXIDO-REDUCCIÓ EN ELS TEIXITS

per

J. PI-SUÑER I BAYO

La funció que ja a primera vista caracteritza la vida en els animals superiors és la respiració. Observació vella la de la mútua relació entre vida i respiració. En el *Gènesi* (llibre II, vers. 7) es diu que Déu, per a animar l'estàtua que havia creat amb fang i convertir-la en home, «inspiravit in faciem ejus spiraculum vitae».

La necessitat d'aire per a mantenir els fenòmens vitals fou demostrada per Robert Hooke en 1667 amb els seus experiments explicats davant la Royal Society de Londres.

Mayow, en 1664, afirmà ésser solament necessari el que anomenà «spiritus nitro-aerus», un dels components de l'aire total, i identificà aquest element constitutiu amb el principi del qual depèn la combustió; però, fou Priestley, cent anys més tard, qui, en realitat, descobrí l'oxigen i afirmà que l'aire gastat per la respiració animal podia regenerar-se per l'acció vital de la planta verda.

Lavoisier (1) dóna a l'oxigen el seu nom. Amb Lavoisier s'inicia la química com a ciència exacta. Deixà d'ésser una ciència misteriosa de tipus medieval, per a convertir-se en una doctrina que requereix càlcul i ba-

lança. I a Lavoisier es deu la teoria actual de la respiració. «La respiració — diu — no és més que una combustió lenta del carbon i de l'hidrogen, molt semblable a la que té lloc en cremar una làmpara o bujia. Així, els animals que respiren són veritables cossos combustibles que cremen i es consumeixen» (2).

Des d'aleshores es consideren els fenòmens vitals com depenent d'una sèrie d'oxidacions, amb el concurs de l'aire. Dumas (3) afirma : «La calor produïda en l'organisme prové únicament de l'oxidació del carbon i de l'hidrogen dels aliments o de les seves reserves.»

Els cossos finals que resulten de la desintegració metabòlica, per oxidació, amb despesa energètica, s'eliminarien per distintes vies, especialment la respiratòria i la urinària.

Les oxidacions donen lloc a calor, i essent aquest necessari al manteniment de la vida, és natural que, amb un criteri lògic i mentre no es presentessin proves experimentals en contra, es cregués que les oxidacions — capaces de donar aquesta calor — fossin les úniques reaccions en la química dels teixits vius de les que resultés el manteniment del funcionalisme orgànic.

Però les coses no tenen lloc d'una manera tan senzilla. Panum (4), en 1863, observa que la causa dels accidents, en certs tipus de septicèmia, no és realment la infecció, sinó la intoxicació per un verí químic reductor, no destructible pel calentament a 100° i soluble en l'aigua i en l'alcohol. Deu anys més tard, Selmi (5) dona el primer pas d'importància en la concepció de la vida anaeròbia. En un anàlisi químic legal descobreix, en vísceres sotmeses al mètode de Stass, compostos que presenten tots els caràcters dels alcaloides. Estimulat per l'escrúpul de consciència, en pensar si el tòxic trobat podia haver penetrat per ingesta o ésser el resultat de

descomposicions naturals, comença les seves memorables recerques, que el porten a la conclusió que en la putrefacció del cos dels animals es formen alcaloides iguals als d'origen vegetal.

La sistematització completa d'aquestes idees no s'assoleix fins a la publicació dels treballs de Gautier (6), especialment fins el 1896 amb la publicació del seu tractat sobre «Les toxines» (7). Demostrada ja la formació d'alcaloides animals en condicions patològiques (Panum) i en el cadàver (Selmi), Gautier aïlla aquests productes tòxics en animals vius i sans, anomenant ptomaines a les substàncies alcalòidiques produïdes en la putrefacció cadavèrica i leucomaines (1881), als compostos nitrogenats de caràcter bàsic resultants de la nutrició cel·lular. Gautier fa notar la diferència entre aquests dos grups de bases d'origen animal : les primeres, originades per la descomposició cadavèrica, són menys oxigenades i més enèrgicament bàsiques, i les segones, produïdes amb intervenció de l'oxigen que els animals respiren, posseeixen el grup carboxil —  $\text{CO} \cdot \text{OH}$ , o l'amídic —  $\text{CO} \cdot \text{NH}_2$ , o l'imídic —  $\text{CO} \cdot \text{NH}$  —, atenuadors dels grups genuïnament bàsics i reveladors de la intervenció d'una hidrolisi secundada per un cert grau d'oxidació (8). Veurem més endavant la importància d'aquestes idees de Gautier, en relacionar la quantitat d'oxigen en la molècula amb l'alcalinitat més o menys marcada de la substància corresponent.

A partir d'aquest moment, les idees canvien totalment. La química animal deixa de reputar-se com exclusivament constituïda per oxidacions, i també deixa d'interpretar-se, com una sèrie d'actes de reducció, la vida dels vegetals (Pi Suñer) (9). Ja no es consideren més els dos regnes com antitètics en la intimitat de llurs activitats metabòliques i «creats per complementar-se, formant una espècie de cercle d'evolució de la matèria»

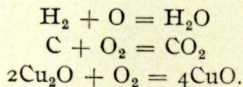
(Carracido) (10); al contrari, es va observant cada dia un major nombre de reaccions comunes als dos regnes, i el mecanisme químic de la vida no es conceptua ja com depenent d'un sol tipus d'operació química, sinó com la suma més complexa d'operacions i reaccions.

Pasteur (11) parla de vida anaeròbia i descobreix microorganismes capaços de viure sense aire. Eixamplant el camp de les seves idees amb estudis ulteriors, distingeix dos tipus de vida, processos diferents que anomena oxidatius o fermentatius, aerobis o anaerobis. Un pas més avant és la idea de l'existència simultània de les dues fases de l'activitat desassimilativa: la primera, sense intervenció de l'oxigen aportat pel medi intern (anoxibiòtica), i formada per transposicions i divisions moleculars, hidratacions, hidrolisis i reduccions; la segona (oxidativa), en la que són cremats els productes de la desintegració anaeròbia amb important despesa energètica. Una part d'aquesta energia contribueix a mantenir les reaccions endotèrmiques de la primera fase (Meyerhof) (12).

Modernament s'han estudiat amb exactitud les relacions entre aquests dos tipus de vida. El metabolisme intermediari és un pas continu d'un a altre tipus, ja que no pot considerar-se cada un d'ells com a forma tancada d'actuar independentment. Es passa molt sovint, en el procés metabòlic, de reaccions d'un tipus a les de l'altre, i fins i tot una mateixa substància pot ésser cremada o bé regenerar sintèticament una altra molècula de tipus superior. L'estudi d'aquests problemes de metabolisme intermediari, sens dubte del major interès, ens portaria ara molt lluny del nostre tema. Recordem solament que se'n troben descripcions detallades en les monografies i articles de Thunberg (13), Ahlgren (14), Meyerhof (15), Pi Suñer (16), etc.

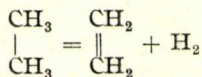
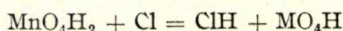
La demostració directa de la capacitat de reducció dels teixits (estudiada precisament per mitjà del blau de metilèn, com féu Humberg més tard) és obra de Dresser (17). Simultàniament, Ehrlich (18) estudia la mateixa qüestió i planteja el problema de les reduccions cel·lulars per primera vegada en tota la seva amplitud i tota la seva importància. En molts casos, l'oxigen no és suficient per a cremar tots els productes de la desintegració anoxibiotica, i en altres, els agents oxidants no posseeixen l'activitat necessària. Per altra part, les proporcions relatives entre les operacions anaeròbies i d'oxidació canvien d'uns teixits als altres, predominant, en alguns d'ells, els actes de reducció, i en altres, les oxidacions. Així s'explica com certs indicadors colorants — blau de metilèn, blau d'alisarina — són reduïts per alguns teixits i no per altres, demostrant-se la viva apetenència d'aquells teixits per a l'oxigen, ja que actuen com a acceptors d'oxigen, o, recíprocament, com a donadors d'hidrogen. Aquestes observacions d'Ehrlich, sobre la reducció de certs indicadors colorants per determinats teixits, han estat fonamentals. Ben precisades posteriorment, fins i tot han permès valoracions quantitatives.

La primera accepció que es donà a la paraula oxidació fou simplement l'addició d'oxigen a una molècula menys complexa. L'oxidació de l'hidrogen dóna lloc a l'aigua; la del carbon, a l'anhidrid carbònic; la de l'òxid cuprós, a l'òxid cúpric, etc.:



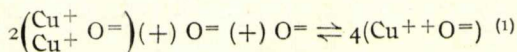
Aquestes operacions són conegudes avui, segons proposà Conant, amb el nom d'oxigenacions.

La conversió de l'àcid mangànic en permangànic; la de l'etan en etilèn, etc., són també oxidacions:

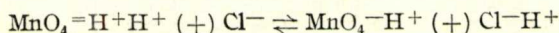


Exemples de la segona accepció del concepte d'oxidació: la separació d'una certa quantitat d'hidrogen.

Però si ens aturem en els casos exposats, arribarem encara a una noció més ample de l'oxidació:



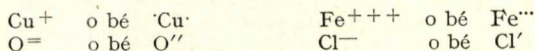
(El primer terme conté 4 càrregues positives i 8 negatives; el segon, 8 positives i 8 negatives. En la reacció, el segon terme ha guanyat + + + +, quatre càrregues positives.



El primer terme conté 3 càrregues negatives i 2 positives; el segon, 2 negatives i 2 positives. En la reacció, el segon terme ha perdut —, una càrrega negativa.

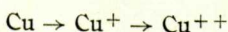
En aquestes reaccions, en el sentit d'esquerra a dreta, es tracta d'oxidacions i en el contrari de reduccions. En efecte, en el ion oxidat hi ha una pèrdua de càrregues negatives o un augment de positives. Aquest

1. No ens cal insistir sobre la significació dels signes de les càrregues elèctriques dels elements o dels ions, càrregues positives o negatives, i de la identitat de les dues maneres d'escriure-les:

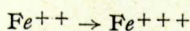


Emprem indiferentment una de les notacions segons ens sembli — en cada cas — més intel·ligible o més còmoda una o altra.

transport de càrregues ens permet una idea més general dels processos d'oxidació i reducció; que depenen, en el fons, de l'equilibri protoelectrònic de l'àtom. Així, l'àtom elèctricament neutre del coure (Cu) conté tants electrons (29) com càrregues positives el nucli; el ion cuprós (Cu<sup>+</sup>) resulta de l'emigració d'un electron (en quedaran 28), i el ion cúpric (Cu<sup>++</sup>) de la falta de dos electrons, restant-ne doncs 27.

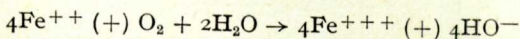


Cosa equivalent es produeix en la conversió del ion ferrós en ferric.

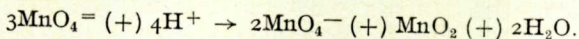


El nom d'oxidació prové de què, primitivament, les soles oxidacions conegudes es produïen a presència i amb intervenció de l'oxigen lliure (les que actualment anomenem oxigenacions). És ben sabut que, en canvi, l'hidrogen és el factor més freqüent de reducció.

Així, per exemple, quan les sals ferroses s'exposen, dissoltes o a presència de l'aigua, a l'acció de l'oxigen atmosfèric, passen a fèrriques. L'oxigen forma ion OH' amb l'aigua, i en produir-se el ion electronegatiu, augmenta proporcionalment la càrrega positiva del ion ferrós, que passa a fèrric:



Altre cas típic d'oxidació és el pas del ion mangànic a permangànic



En les oxidacions augmenta el grau d'alcalinitat de les solucions (la concentració de ions HO<sup>-</sup> o la dismi-

nució dels  $H^+$ , segons els exemples que acabem de veure) i en les reduccions, recíprocament, el d'acidesa (concentració de  $H^+$  o disminució de  $HO^-$ ), com, segons hem dit, ja indicà Gautier. Aquest fenomen, de gran importància, és el fonament dels mètodes electromètrics per a determinar el potencial d'òxido-reducció.

Dins de certs límits, la reducció és prou activa perquè l'hidrogen iònic es descarregui — perdi càrregues positives — i passi a hidrogen molecular,  $H^+ (+) H^+ - 2^{++} = H_2$ , hidrogen que desenrotllarà, en la solució respectiva, la tensió baromètrica corresponent a la seva concentració: la tensió del gas serà proporcional a la quantitat d'hidrogen molecular.

En l'equilibri d'òxid-reducció s'estableix l'estat

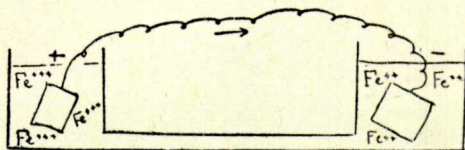
$$\frac{H^+ \times (\text{Red})}{H \times (\text{Oxi})} = K. \quad (1)$$

Es ben coneguda la teoria de les piles de concentració (19); si s'immergeix una placa de metall en una solució d'una sal del propi metall, en la que hi hauran ions del mateix, s'estableix una diferència de potencial elèctric entre la placa i la solució, corresponent a la situació d'equilibri entre la tensió de difusió iònica (que dóna lloc a l'emissió de ions des de la superfície del metall) i la tensió osmòtica parcial exercida pels ions dissolts; com més gran serà aquesta tensió iònica — la concentració dels ions en solució —, menys quantitat de ions metàl·lics, electropositius, es desprendrà de la superfície de la placa, i menys disminuirà la seva positivitat. En una paraula, que una placa immersida en una solució dels seus ions serà més positiva com més gran sigui la concentració d'aquests ions, i viceversa.

Si unim dos d'aquests sistemes — placa metàl·lica i solució iònica — mitjançant un circuit, comunicant per



un fil placa amb placa, es comprèn que, si les concentracions dels ions dissolts en cada un d'aquests sistemes són diferents, s'establirà un corrent elèctric, que podrem mesurar. En aquest sistema el pol positiu serà la placa de major positivitat, la submergida en la solució més concentrada.



Suposem el cas d'un metall noble (platí, or), immergit en una solució, metàl·lica o no, oxidable i reducible, en la qual, doncs, poden variar les càrregues presents o en potencial. Com en l'exemple anterior, variarà la positivitat de la superfície metàl·lica segons les càrregues en solució. Augmentarà, naturalment, la dita positivitat en augmentar la concentració de les càrregues positives. Així, doncs, com més enèrgic l'oxidant, i en conseqüència, com major sigui la concentració del producte oxidat en càrregues positives i en aptitud de cedir-les, major serà la positivitat de la placa metàl·lica.

Si ara s'uneixen elèctricament dos electrodes immergits, per exemple, en sengles solucions de sals ferroses i fèrriques, respectivament, es produirà, com abans, un corrent elèctric proporcional a la diferència de potencial entre els dos vasos, segons llur força electromotriu (F. E. M.).

Diferència de potencial que depèn, com hem vist, de la tensió dels ions en solució i de la tensió de difusió que obra en sentit contrari. La tensió de difusió per a cada metall, i a una determinada temperatura, és una

quantitat constant; la tensió osmòtica dels ions varia, en canvi, proporcionalment a llur concentració. Per tant, el potencial d'un metall contra un líquid que conté els seus ions (o, en el nostre cas, entre dues solucions de diferent concentració en càrregues elèctriques), canviarà amb la concentració dels seus ions.

I, segons el càlcul de Nernst, és coneguda la fórmula:

$$F. E. M. = \frac{RT}{Fv} L_g \frac{C}{C'}$$

en la que R és la constant dels gasos; T, la temperatura absoluta ( $273^{\circ} + t$ );  $v$ , la valència del ion, i F, el nombre de faradais, o sigui la quantitat d'electricitat necessària per a la separació d'1 gram equivalent electroquímic; C i C' són, naturalment, les concentracions respectives de les solucions.

Del que ja hem dit se'n desprèn que aquesta fórmula servirà igualment quan es desitgi calcular la F. E. M. d'una cadena de dues solucions que continguin, respectivament, ions més o menys oxidats ( $Fe^{+++}$  i  $Fe^{++}$ , per exemple), convertint-se aleshores en

$$F. E. M. = \frac{RT}{Fv} L_g \frac{(Ferro)}{(Ferri)}$$

Si l'electrode es submergeix en una solució que contingui barrejats ions ferrosos i fèrrics en equilibri d'òxido-reducció, aquest electrode agafarà un potencial elèctric estable, en funció de les concentracions respectives de Ferro i Ferri, obeint la llei general. La fórmula, en el cas particular discutit, serà:

$$E_h = E_k - \frac{RT}{Fv} L_g \frac{(Ferro)}{(Ferri)}$$

En aquesta fórmula,  $E_h$  és la diferència de potencial observada entre l'electrode problema i l'electrode normal d'hidrogen.  $E_k$ , és una constant característica d'aquest particular equilibri d'òxido-reducció i és igual a  $E_h$  quan  $\frac{(\text{Ferro})}{(\text{Ferri})} = 1$ ; (Ferro) i (Ferri), naturalment, signifiquen les respectives concentracions en la solució dels ions ferrosos i fèrrics. La fórmula general de l'equació corresponent a l'equilibri òxido-reductor és:

$$E_h = E_k - \frac{RT}{Fv} \text{Lg} \frac{(\text{Red})}{(\text{Oxi})} \quad (2)$$

però com que ja sabem (1) que

$$\frac{[\text{H}\cdot] \times (\text{Red})}{(\text{H}) \times (\text{Oxi})} = K$$

resulta

$$K \times \frac{(\text{H})}{[\text{H}\cdot]} = \frac{(\text{Red})}{(\text{Oxi})}$$

substituint en la fórmula (2) tindrem

$$E_h = E_k - \frac{RT}{Fv} \text{Lg} K \frac{(\text{H})}{[\text{H}\cdot]} \quad (3)$$

Recordem ara que existeix un equilibri entre l'hidrogen molecular que circula per l'electrode i l'hidrogen atòmic en l'electrode.<sup>1</sup> Aquest equilibri pot expressar-se, segons la llei de masses

$$\frac{(\text{H}) \times (\text{H})}{(\text{H}_2)} = K_1,$$

1. La diferència de potencial entre un metall i una solució varia segons la condició en què està el metall. Una làmina tallada simplement, o premsada, o feta al martell, es comporta d'una manera diferent que el mateix metall dipositat elèctricament. Igualment, si dos elec-

fórmula en la qual (H) representa la concentració d'hidrogen atòmic i (H<sub>2</sub>) la concentració de l'hidrogen molecular.

$$\frac{(H)^2}{(H_2)} = K_1,$$

d'on

$$(H)^2 = K_1 \times (H_2) \quad i \quad (H) = \sqrt{K_1 \times (H_2)},$$

i com que (H<sub>2</sub>) és la concentració de l'hidrogen molecular dissolt, funció — tal com hem dit — i a igualtat de les altres condicions, de la pressió gasosa de l'hidrogen (P), i l'arrel quadrada d'una constant (K<sub>1</sub>), és una altra constant (K<sub>2</sub>), podem escriure

$$(H) = K_2 \sqrt{P}$$

Ara, en (3) substituint i reunint constants en E'<sub>k</sub>

$$E_h = E'_k - \frac{RT}{Fv} \text{Lg} \frac{\sqrt{P}}{[H]} \quad (4)$$

i com que E'<sub>k</sub> en (4) és, per definició, zero,<sup>1</sup> quan es fa ús, com a sistema de referència, de l'electrode normal

trodes d'hidrogen són immersits en la mateixa solució i a la mateixa temperatura, però sota diferent pressió d'hidrogen gasós, el potencial diferencial entre ambdós electrodes pot expressar-se

$$E = E_1 - E_2 = \frac{RT}{F} \text{Lg} \frac{(H)_1}{(H)_2},$$

fórmula en la qual (H)<sub>1</sub> i (H)<sub>2</sub> representen les respectives pressions gasoses, determinants en aquest cas de les concentracions d'hidrogen atòmic en els electrodes (negre de plati, per exemple). Com que v, valència de l'hidrogen, és 1, es pot ometre's en aquesta fórmula.

1. La valor de E<sub>k</sub> entre un electrode d'hidrogen a la pressió d'hidrogen a 1 atmosfera i el d'una hipotètica solució normal de ion hidrogen (1 gr. d'hidrogen per litre) és zero a totes les temperatures.

d'hidrogen, succeirà el mateix quan hi hagi les mateixes condicions en tractar d'utilitzar la fórmula (4); això és igualment aplicable al cas de l'electrode d'hidrogen quan es tracti de determinar la concentració d'hidrogenions i també l'estat d'un equilibri d'òxido-reducció. D'aquesta manera, la fórmula queda

$$E_h = - \frac{RT}{F} \times \text{Lg} \frac{\sqrt{P}}{(H)}, \quad (5)$$

perquè  $v$  de la fórmula general (valència del ion) és 1 tractant-se de l'electrode d'hidrogen.

Aquesta fórmula, tenint en compte la valor de  $R$  (constant de gasos en massa elèctrica, igual a 8,316 voltcoulombs),  $F$  el número de coulombs corresponent a 1 gram-equivalent electroquímico (96540) i recordant, a més, el coeficient ( $M$ ) de reducció per a passar de logaritmes naturals a decimals de Brigg (0'4343), resulta, a 17°:

$$E_h = - 0.0577 \log \frac{\sqrt{P}}{(H)}. \quad (6)$$

on es veu la relació que hi ha entre potencial, tensió de l'hidrogen molecular, i concentració d'hidrogenions. En les nostres determinacions coneixem el potencial, que és el número donat per la determinació potenciomètrica. Les altres dues variables són la tensió de l'hidrogen i la concentració d'hidrogenions.

Ara bé, el problema clàssic consistia en mesurar la concentració d'hidrogenions, i és ben sabut que s'ha de tenir en compte per això la pressió baromètrica, que influeix sobre el resultat, ja que, en fer circular lliurement l'hidrogen per l'electrode, aquest hidrogen adquireix la pressió baromètrica de l'aire. Això implica una correcció (v. Clark (20), pàg. 159).

Recíprocament, conegut ( $H\cdot$ ), es pot investigar la tensió de l'hidrogen de l'equilibri d'òxido-reducció, ja que aquest està en equilibri, també, amb l'atmosfera d'hidrogen. Per això cal l'ús d'esmoreïdors — *buffers* — que mantinguin la solució a un ( $H\cdot$ ), a un PH, conegut i constant.

Clark ha proposat, per a la designació d'aquesta tensió de (H) molecular, el símbol  $\nu H$ . És el logaritme del número recíproc de P

$$\nu H = \log \frac{1}{P};$$

per tant, partint de (6), tindrem

$$\log P = \frac{2(0.0577 \times \log[H\cdot] - E_h)}{0.0577},$$

i ja que per definició

$$\nu H = \log \frac{1}{P} = -\log P$$

$$\nu H = \frac{2(E_h - 0.0577 \times \log [H\cdot])}{0.0577}$$

o sigui

$$\nu H = \frac{2(E_h + 0.0577 \times \log \frac{1}{[H\cdot]})}{0.0577}$$

i per tant

$$\nu H = \frac{2(E_h + 0.0577 \times PH)}{0.0577}.$$

Diguem, en acabar, que certament s'han fet algunes reserves respecte a la relació, en totes les circumstàncies, de l'equilibri àcido-bàsic amb el d'òxido-reducció. Es tracta, en efecte, de dues coses distintes.

Però els resultats experimentals demostren que, dintre dels límits en què un i altre es mouen en biologia, el mètode que es deriva de la relativa identitat és prou aproximat.

Repetim que com més oxida un medi d'oxidació, més positiu és el seu potencial. Això constitueix la base de totes aquestes determinacions i càlculs electromètrics.

Com a zero en l'escala de potencials, es pren l'electrode normal d'hidrogen. La diferència del potencial amb referència a aquest electrode ja hem dit que es simbolitza per  $E_h$ .

L'oxigen a la pressió atmosfèrica, sota el mateix PH que el de l'electrode normal d'hidrogen corresponent, dóna un potencial de + 1'23 volts. Mentre la diferència de potencial entre l'electrode d'oxigen en les circumstàncies descrites i el de l'hidrogen normal és la valor indicada (+ 1'23 volts), igual en solucions àcides que alcalines, la posició absoluta d'aquests potencials varia en la gama segons els PH. El potencial de l'hidrogen a la pressió atmosfèrica és en solució neutra  $E_h = - 0'425$  volts, i en solucions alcalines,  $E_h = - 0'82$ .

Heus ací ràpidament exposat el concepte de  $\nu H$ , els seus fonaments teòrics i els principis de què deriva la seva valoració electromètrica. Tot es redueix, com pot veure's, a un cas particular — amb inversió de la variable desconeguda — de la determinació del PH. Coneixent bé aquella tècnica, amb la mateixa instal·lació — molt lleugerament modificada — certes diferències en la manera d'operar i ja hem dit que en el càlcul, s'arribarà ràpidament a la determinació elèctrica d'aquestes valors. No ens entretindrem, per tant, en la descripció detallada d'aquest mètode. A qui interressi aquest assumpte, trobarà detalls complementaris en espanyol, en la magnífica tesi de Corral (19).

Però el mètode electromètric no és l'únic que pot emprar-se. Més senzills, encara que no d'una exactitud tan precisa, són els mètodes colorimètrics, fent ús d'indicadors ben determinats a partir, sobretot, dels treballs de Clark i la seva escola (20, 21, 22, 23).

De la mateixa manera que en les sèries d'indicadors usats per a investigar la reacció actual, cada un dels indicadors de reducció proposats per Clark i els seus col·laboradors, correspon a una situació distinta en la sèrie de potencials. Es comprèn que substàncies colorants diferents podran variar de color, en variar la situació respectiva de les càrregues positives i negatives, si és que canvien els colors en modificar-se les concentracions, sempre recíproques, de  $H^+$  i  $OH^-$ .

Són especialment interessants els resultats obtinguts, prop de la neutralitat de les solucions respectives, per ésser mínim aleshores l'error i no requerir correcció.

Quan es troben junts dos sistemes electromotors actius es produeix una reacció entre ambdós. El més positiu oxida el més negatiu, i aquest redueix a l'altre, fins a assolir la situació d'equilibri, és a dir, fins a igualar els potencials respectius.

La sèrie d'indicadors de Clark consta dels següents:

- o. clor fenol indofenol.
- 2.5. dibromofenol indofenol.
- o. cresol 2,6 diclor indofenol.
- 1. naftol, 2. ac. indofenol sulfónico.
- Violeta de Iauth.
- Blau de metilèn.
- Tetrasulfatonat d'índig.
- Trisulfonat d'índig.
- Disulfonat d'índig.
- Monosulfonat d'índig.
- Fenosafranina.
- Verd Janus.
- Roig neutre.



El mètode dels indicadors ha estat freqüentment utilitzat i fent-ne ús s'han portat a cap treballs del major interès. Citem entre ells els de J. i D. M. Needham (25) sobre la valor del  $rH$  intracel·lular en diferents condicions, determinat per microinjecció segons el mètode de Chambers. Aquests esmentats autors han obtingut resultats equivalents als de Rapkine i Wurmser (26), qui els establiren amb mesures potenciomètriques.

A més d'aquests indicadors de Clark, podem comptar amb altres procediments colorimètrics per a determinacions quantitatives; entre ells esmentarem, com de major seguretat i més pràctics, els de Vernon (27), amb el indolfenol, i de Lipschitz (28, 29).

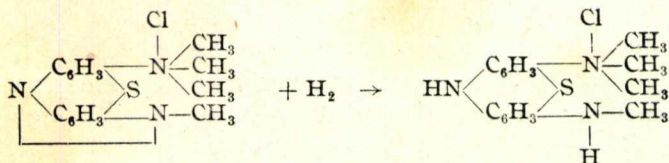
I disposem finalment del mètode de Thunberg, que descriurem amb major detenció, ja que és el que hem utilitzat per elaborar la part experimental d'aquesta tesi.

Hem escollit la tècnica de Thunberg per diverses raons: per la seva senzillesa, la seva exactitud; en certs casos, superior fins i tot a la dels mètodes electromètrics, si no es manegen amb precaució exquisida i, finalment, per tractar-se d'un mètode nou, encara no usat, que nosaltres sapiguem, a Espanya i la vulgarització del qual creiem ésser d'interès.

Les dades que segueixen, referents a la tècnica, estan preses, en llur majoria, de les obres de Thunberg (30), Ahlgren (31, 32), Michaelis (33) i Clark, Cohen i Gibs (23). Volem fer constar ací la nostra gratitud al professor Thunberg pels aclariments que ens féu sobre alguns punts, quan visitàrem el seu Institut de Lund. D'igual manera agraïm els consells de Needham i Wurmser.

El blau de metilèn, per addició de dos àtoms d'hi-

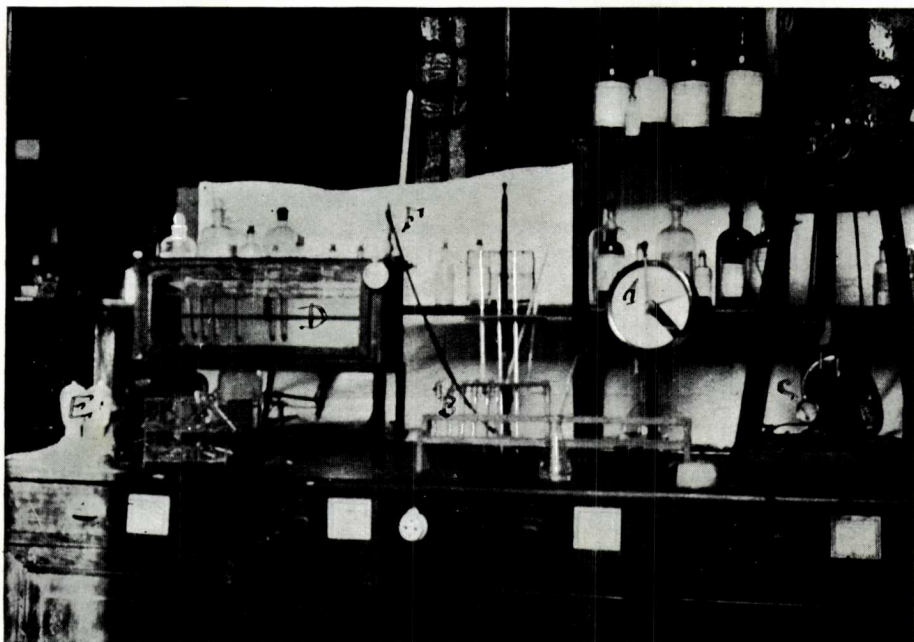
drogen es redueix i decolora, i es forma el seu leuco-derivat.



Si posem en un tub model de Thunberg, en el qual s'hi hagi fet el buit, una quantitat coneguda de Mb (Mb és l'abreviatura de què farem ús per a designar, a partir d'aquest moment, el blau de metilèn; es tracta d'una notació internacional amb un valor semblant al d'un símbol químic), un esmorteïdor que mantingui constant la reacció actual i una certa quantitat de teixit finament dividit, i el submergim en un termostat, el teixit reduirà el Mb i el decolorarà, especialment a presència d'un cos donador d'hidrogen. El temps que tarda a decolorar-se el Mb és funció de la capacitat de reducció del teixit, mentre siguin iguals les altres circumstàncies.

El temps de decoloració pot ésser influït per factors diversos que el modifiquen, com són la quantitat de teixit, el seu grau de divisió, la concentració del donador d'hidrogen, la temperatura, la reacció actual del medi, la tensió osmòtica, el temps transcorregut des de l'excisió del teixit, etc. També poden influir-hi certes drogues i hormones. La monografia d'Ahlgren (31) és una excel·lent exposició tècnica que en fa la crítica, i ens en ensenya les possibilitats.

Per a efectuar una determinació, s'agafa una quantitat de teixit (en les nostres experiències, sempre 0'2 gr.) en un tub de Thunberg, s'hi afegeix un donador d'hidrogen, que facilita i accelera la reacció, i de seguida, blau



Instal·lació per a les determinacions del potencial d'òxido-reducció

de metilèn i aigua fins a igualar els volums en tots els tubs, a fi de fer més fàcil la lectura i suprimir un factor de dilució, possible causa d'error en tota determinació colorimètrica.

Per a la conservació del teixit en les millors condicions es procurarà que entre l'extirpació del múscle de l'animal i la immersió del tub que el conté en el termostat, passi el mínim de temps possible; per a això, els tubs es tindran ja preparats abans amb les solucions necessàries, menys el blau de metilèn que solament s'afegeix al final, per tal d'evitar que comenci a decolorar-se a la temperatura del laboratori.

El múscul es posarà en un vidre de rellotge i es tallarà amb les tisores paral·lelament al pla del vidre, fins a aconseguir una divisió uniforme; és indispensable fer ús d'unes tisores molt esmolades i procedir ràpidament. El vidre de rellotge es mantindrà durant tot el temps de l'operació sobre un bloc de gel; el múscul es dissecarà i rentarà acuradament, de manera que no quedin nervis, aponeurosis, sang, pèls, etc

Per a fer el buit es tanquen els tubs amb grassa, que ha d'ésser neutra, a fi que la seva reacció actual no pertorbi la valoració. És indispensable portar a cap amb tot rigor l'operació, ja que si no es fa així, el leucoderivat es tornaria a oxidar per l'acció de l'aire, a mesura que s'anés formant, constituint novament Mb. Això pot demostrar-se d'una manera clara i espectacular en obrir els tubs un cop decolorat llur contingut: veurem com immediatament es torna blau, en entrar l'aire.

Per al greix que assegurí l'oclusió del tub, s'aconSELLA la fórmula següent:

Goma aràbiga.....	1 part
Vaselina líquida.....	2 parts
Parafina líquida espessa.....	1 part
(Barregi's en bany de sorra, a 150°).	

El buit es farà amb una bomba que assegurí una pressió de menys de 12 mm. de mercuri. Thunberg aconsella una bona bomba d'aigua, però en les nostres condicions, en un segon pis, això no és suficient per falta de pressió de l'aigua; hem fet ús d'una bomba elèctrica amb tancament d'oli, que assoleix pressions de 6-7 mm. Hg.

Es tanquen els tubs i es separen de la bomba dintre d'un cristal·litzador ple d'aigua, per a evitar que entri ni la més petita quantitat d'aire i assegurar, a més, el tancament absolut per l'aigua que queda en el tubet horitzontal, aigua que, per altra part, en cas de tancament imperfecte, seria xuclada pel buit del tub, i ens indicaria que el temps obtingut amb aquell tub no té ni la més petita valor experimental.

S'anoten el moment d'immersió en el bany i el de decoloració completa : llur diferència és el temps que s'ha trigat a reduir el Mb. La decoloració es fa molt visible treballant amb músculs rojos (gos, gat, etc.), ja que la composició del color muscular i dels darrers rastres de blau dissolt dóna un matiç violat que es presenta bruscament amb la mateixa rapidesa i claredat que un viratge en una titulació química. En canvi, en treballar amb músculs blancs (granota), és més difícil apreciar el punt exacte de decoloració, perquè el blau es va afeblint lentament. Per a major precisió pot col·locar-se en el termostat, al costat dels tubs preparats, un altre tub que contingui blau de metilè o, millor encara (com hem fet nosaltres), un tub procedent de l'observació del dia anterior i, per tant, absolutament decolorat; tub que

s'haurà conservat en la nevera per a evitar, en el possible, la proteolisi i la putrefacció. Aquest terme de comparació facilitarà molt la lectura. La llum ha d'ésser blanca i potent i, a ésser possible, il·luminació per transparència; per a això, la paret posterior del termostat és de vidre esmerilat, així com la bombeta, que serà movable al llarg d'aquesta paret, perquè la il·luminació resulti sempre perpendicular, sigui la que sigui la posició del tub observat en el termostat.

Per als nostres treballs hem fet construir un termostat, reproducció exacta dels utilitzats per Thunberg i els seus col·laboradors.

Els tubs han estat subministrats per la casa H. Struer, Skindergade, 38, Copenhague.

Han d'estar curosament netejats i desengrassats després de cada observació i assecats a l'estufa per al dia següent.

Per a mantenir constant la reacció actual ha de posar-se en el tub, com hem dit, un sistema esmorteïdor; és aconsellable una barreja de solució de fosfat mono i bipotàssic semimolar. És la que recomana Sørensen per als treballs sobre enzimes i que diverses fàbriques alemanyes de productes químics venen ja preparada, a punt de dissoldre, amb indicació de la quantitat per litre per a cada cas. Cal advertir que no pot emprar-se en aquestes operacions cap reactiu que contingui calci, ja que aquest actua com a tòxic sobre les enzimes d'òxido-reducció; quan es tracta de deshidrases d'origen vegetal, fins i tot el sodi pot perjudicar-les.<sup>1</sup>

1. Thunberg (30) aïlla, de les llavors de les plantes, deshidrases que s'hi troben amagatzemades en gran quantitat. Les extreu en cinc vegades llur volum de solució al 0'17 per 100 de fosfat bipotàssic durant vint minuts i en fred. Centrifuga i separa el líquid superior on està dissolta l'enzima i l'empra directament per a les investigacions. En filtrar el líquid, aquest pot perdre una part de la seva activitat dias-

Per a facilitar la reacció és convenient fer ús de donadors d'hidrogen. Aquests, de vegades acceleren el procés, i d'altres, faran possible, senzillament, observar-lo. Pot, en efecte, succeir (i d'això han derivat importants aplicacions, en relació amb el càlcul de valors electromètriques, a base de senzilles observacions colorimètriques) que l'hidrogen que alliberi el medi per l'acció de l'enzima no sigui suficient, si no hi ha un donador que faci possible la decoloració total de Mb. També pot passar que s'hagi posat una quantitat excessiva d'aquest indicador en relació a la quantitat total de líquid.

Com a donadors d'hidrogen poden emprar-se l'àcid succínic, àcid glicerofosfòric, àcid fòrmic, alanina, etc. Els àcids poden utilitzar-se en forma de llurs sals neutres, especialment les potàssiques, de manera que influixin poc sobre la reacció actual. No s'han d'emprar mai líquids en els que s'han dissolt indicadors d'equilibri àcid bàsic, i cercar així un índex que ens doni la certesa que no canvia la reacció actual del sistema, ja que tots aquells indicadors, àdhuc en llurs dilucions màximes, són tòxics per als enzimes deshidrogenadors.

Els tubs de buit i altres aparells descrits poden servir per a la valoració numèrica del potencial d'òxidoreducció; és a dir, les xifres de temps o quantitat poden convertir-se, per càlcul, en valors de potencial elèctric (30).

tàsica. Thunberg ha trobat que les llavors de cogombre i de pèsol són les més actives. El líquid conservat a temperatura ambient perd ràpidament la seva activitat; en canvi, la conserva bé durant unes quaranta-vuit hores a la nevera. Nosaltres (41) hem obtingut deshidrogenases i ferments que actuen com a tals en certes condicions, no solament de la llavor, sinó de les beines dels pèsols joves. Són menys actives que les altres.

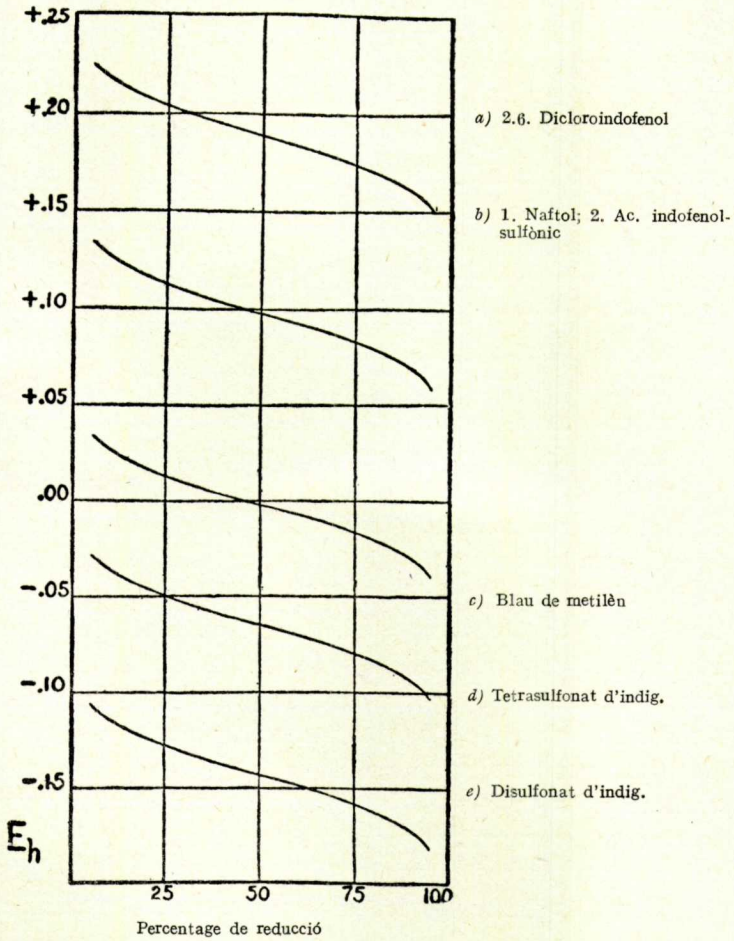


Fig. 1 (de Clark)

Equivalent elèctric de la reducció percentual de diferents indicadors a un PH = 7,4



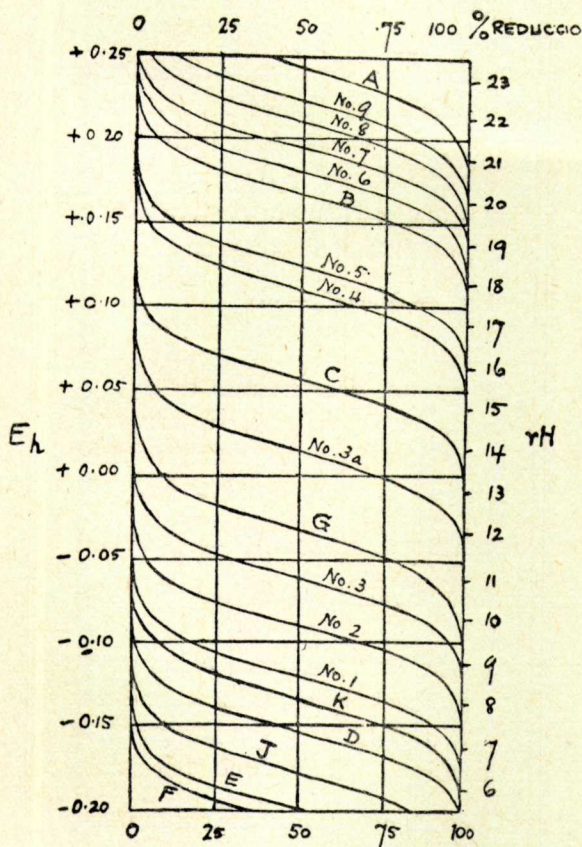
*Fonament.* — Com a zero en l'escala de potencials es pren, segons proposa Nernst, el potencial d'un electrode de platí submergit en solució doble normal d'àcid sulfúric, pel qual passi hidrogen a la pressió atmosfèrica. Els potencials referits a aquest zero s'indiquen per  $E_h$ . Hem vist que com més fortament oxidat està un medi, més intens és el seu potencial; de manera que l'oxigen a la pressió atmosfèrica i al mateix PH de l'electrode normal, dóna un potencial de + 1'23 volts, diferència de potencial entre l'electrode d'oxigen i el d'hidrogen (sempre constant, però que varia en la seva posició, en l'escala total, segons el PH).

Cada un dels indicadors de la sèrie de Clark representa per a cada PH una part de l'escala d'òxido-reducció i entre tots la cobreixen completament; ja hem dit anteriorment que les millors valors són les obtingudes prop de la neutralitat.

Copiem dues figures de Clark (22) i J. Needhan i D. M. Needhan (25) per a un PH de 7'4 la primera i de 7 la segona. Si observem en la figura de Clark les concentracions relatives del blau de metilèn i de leucoderivat, veurem que s'observa una reducció d'un 50 per 100 quan el  $E_h$  és igual a 0'0 (0, més exactament, = - 0'002). Com més positiu sigui el sistema, més gran serà la quantitat relativa de Mb en la seva forma oxidada (blava), mentre que com més negatiu, major percentatge tindrem de la forma leucoderivada.

Quan es barregen dos sistemes electromètricament actius i de potencial diferent, es produeix una reacció entre els dos sistemes, oxidant el més positiu a l'altre i viceversa, fins a igualar el potencial o fins arribar a una forma d'equilibri proporcional a les concentracions relatives de la forma oxidada i la forma reduïda en el medi.

Suposem una solució de clorur ferrós que s'oxida a la temperatura de l'habitació pel permanganat potàssic. El potencial de la conversió de Ferro en Ferri és de + 0'75 volts, i el de la conversió de permanganat en manganat, de + 1'52 volts.



1. Indigotintrisulfonat potàssic.
2. Indigotintetrasulfonat potàssic.
3. 1, naftol; 2. àcid 2,6. diclorhidrofenolsulfònic.
4. 1, naftol; 2. ac. indofenolsulfònic.
5. O cresol 2,6. dicloroindofenol.
6. C cresolindofenol; 8. 2,6. dibromofenolindofenol; 9. O clorofenolindofenol; 3. blau de metilèn.
7. A. m., bromofenol; B, timolindofenol; C, violeta de Lauth (tionina); D, monosulfonat d'indig; E, verd de Janus; F, roig neutre; G, hermidina; J, equinocrom; K, hemoglobina-meta-hemoglobina.

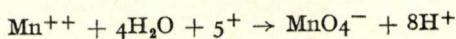
Fig. 2 (de Needhan i Needhan)

Equivalent elèctric de la reducció percentual de diversos indicadors a un PH = 7

De manera que en mesclar les dues solucions, tindrem

$$0.75 + 0.0577 \log \frac{C_{\text{Fe}^{+++}}}{C_{\text{Fe}^{++}}} = 1.52 + \frac{0.0577}{5} \log \frac{C_{\text{MnO}_4} \times C_{8\text{H}^+}}{C_{\text{Mn}^{++}}}$$

on 0'0577 és igual (com hem vist anteriorment) a la suma de la constant de gasos més la temperatura absoluta ( $273 + t$ ) dividida per  $0'4332 \times 9654$  (coeficient de conversió de logaritmes naturals a logaritmes de Brigg, per equivalent gramelectromètric en coulombs). C expressa les concentracions respectives dels ions i dividint, per fi (en cada un dels termes), la valor 0'0577 pel número de càrregues positives que perden, respectivament, els cossos en la reacció : 1 en ferri a ferro; 5 en



resoldrem el problema.

Si ara suposem el cas que els dos sistemes es trobin en quantitats molt distintes en la solució, de manera que pugui considerar-se'n una com a predominant, mentre que l'altra, per la seva escassa quantitat relativa, gairebé no compta en el canvi potencial, la relació  $\frac{\text{oxi}}{\text{red}}$  de la reducció és pràcticament equivalent a la del sistema predominant.

És un cas particular quan a un sistema electromotor actiu i concentrat se li afegeix una petita quantitat d'indicador positiu en relació al sistema predominant i el qual, per reducció, es decolora. La variació potencial del sistema  $\frac{\text{oxi}}{\text{red}}$ , per influència de l'indicador, serà quantitativament menyspreable en relació a la del sistema predominant, però, en canvi, ens indicarà l'estat d'oxidació (càrregues positives) del predominant.

Si disposem una sèrie de tubs en les condicions esmentades anteriorment, però sense donador d'hidrogen i procurant que la decoloració del blau de metilèn no arribi a ésser total per insuficiència d'hidrogen capaç de desprendre's, ens trobarem que, passat un temps, s'haurà arribat a una constant de decoloració per haver-se esgotat l'hidrogen làbil. En practicar observacions colorimètriques de tant en tant, trobarem en dues determinacions consecutives el mateix color, ço que significarà haver assolit una fórmula d'equilibri entre el Mb i el seu leucoderivat, amb un percentatge determinat de cada un.

Suposem, per exemple, que hem arribat a aquest estat d'equilibri amb 53'6 per 100 de Mb i 46'4 per 100 de L Mb.

Si cerquem en les taules de Clark els potencials de reducció observats pel blau de metilèn a distints PH, tindrem:

PH	Potencials
4'92.....	+ 0'105
5'92.....	+ 0'051
6'67.....	+ 0'024
7'48.....	0'000
8'62.....	- 0'040
9'61.....	- 0'068

i suposant que hem treballat a un PH = 6'91, trobem, per interpolació en la taula, la valor  $\pm 0'017$ . Aquesta valor és exacta quan la relació entre  $\frac{\text{oxi}}{\text{red}}$  és igual a 1, però, com hem vist, en el nostre cas les valors es troben en la relació 53'6 per 100 a 46'4 per 100, i com que quan més augmenti la quantitat de forma reduïda, més negatiu serà el potencial i viceversa, la valor  $+ 0'017$ , menys una constant ja coneguda per càlcul (0,03006), multi-

plicada pel logaritme de la proporció entre forma reduïda i forma oxidada, seguirà la fórmula general.

$$X = A - 0.03006 \log \frac{C_{Red}}{CO_x}$$

essent X el potencial que investiguem, i A, el potencial per a proporcions equimoleculares de les dues formes.

Així, en el nostre cas particular

$$X = + 0.017 - 0.03006 \log \frac{53.6}{46.4} = 0.015 \text{ volts.}$$

Les oxidacions i reduccions que tenen lloc en els organismes vivents no es realitzen espontàniament. A la temperatura del cos no s'explica llur producció pels mecanismes químics habituals. Es necessita, per tant, la intervenció de factors distints dels que intervenen en les reaccions de la química inorgànica. Aquests factors poden ésser diastases, pot ésser l'activació específica d'alguns dels elements químics que intervenen en la reacció, canviant l'arquitectura de la seva estructura molecular (34).

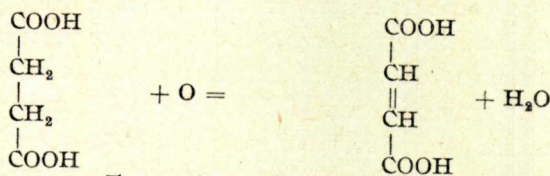
Entre les diastases podem citar les catalases (Thénard, 1818), el paper de les quals en els fenòmens d'òxido-reducció ha estat demostrat per Batelli i Stern (35). Les peroxidases que alliberen dels peròxids oxigen actiu, que oxidarà els acceptors, reintegrant-se després els peròxids (Bach i Chodat) (36). Les veritables oxidases, de les quals poden distingir-se diversos grups (Lambling) (37), dotades de funció distinta.

Abelous i Aloy (38, 39), l'any 1903, parlen per primera vegada d'enzimes, ensems oxidants i reductores, i ja els donen el nom d'òxido-reductases : la reducció de nitrats a nitrits i l'oxidació recíproca. L'oxidació

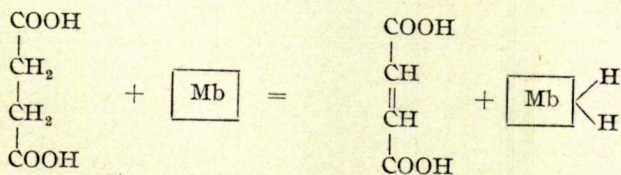
i reducció simultànies de l'aldehid salicílic, per l'extracte de fetge de cavall (reacció de Cannizzaro) fou la primera que observaren. Afirmaven que sempre que hi ha una oxidació es produeix, simultàniament, una reducció, i que és impossible inhibir una operació sense inhibir l'altra, cosa que demostraria, segons ells, la identitat de la diastasa productora de les dues operacions.

Entre altres diastases d'aquest tipus podem indicar les aldehydases, aldehydomutases, alcoholoxidases (Batelli i Stern (40), Parnas (42), etc.).

La succino-deshidrogenasa de Thunberg (47) actua en l'oxidació de l'àcid succínic en els teixits. Reacció de deshidrogenació típica, per una diastasa que aïllaren Widmark (43) i Ohlson (46). Es troba en els teixits animals, i actua àdhuc en absència d'oxigen, mentre hi hagi donadors d'hidrogen. Thunberg es basa en aquest fet i ha imaginat un esquema del metabolisme intermediari, de gran interès teòric.



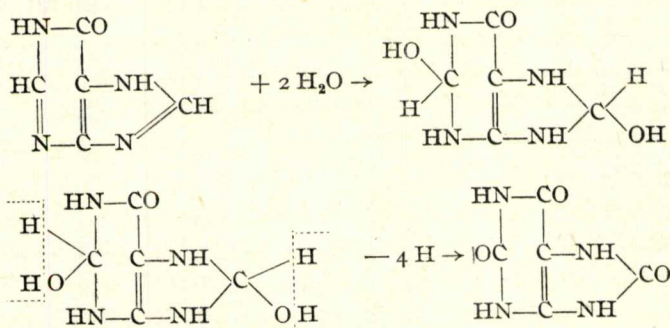
En presència de l'aire.



En medi anaerobi.

Una altra reacció de deshidrogenació i produïda possiblement per un ferment molt pròxim a la succino-

deshidrogenasa de Thunberg, és la de la xantina i la hipoxantina que es converteixen en àcid úric.



Si deixem de banda, ara, quines són les diastases que intervenen i estudiem solament el procés des d'un punt de vista estrictament químic, podem explicar els fenòmens d'oxidació per dos mecanismes oposats. Des de fa dos anys, dos grups d'investigadors defensen, d'una manera absoluta i exclusiva, explicacions contraposades, encara que la veritat estigui probablement en les prudents paraules de Hopkins (44): «La meua opinió, emesa amb tota reserva, és que els punts de vista d'aquests dos distingits investigadors (Warburg i Wieland) tan sols són mútuament incompatibles quan s'expressen en forma dogmàtica. I és que tota expressió exclusiva i rígida sobre qualsevol fenomen de la vida és arriscada, perquè la cèl·lula més insignificant té, sovint, l'atreviment de conduir-se com un petit heretge.»

En efecte, s'han extret dels teixits diastases acceleradores de l'oxidació «in vitro» (Wurmser) (24). Entre elles, unes són deshidrases, és a dir, afavoreixen la separació de l'hidrogen, i altres, oxidases, que donen lloc a la fixació de l'oxigen molecular. Aquestes semblen ésser de tipus similar als autoxidants metàl·lics. També pot influir afavo-

rint les oxidacions una acció de superfície amb activació física de les molècules. Recordem, en efecte, els canvis d'estructura molecular que poden explicar, des d'un punt de vista físic, aquesta activació (Lewis) (34), (Langmuir) (48). Warburg ha intentat demostrar «in vivo» la importància d'aquestes accions de superfície (49). Com a demostració, ha estudiat la influència dels narcòtics, observant que la inhibició sobre l'oxidació és proporcional a la capacitat d'absorció dels diferents tòxics pel sistema respectiu (50).

Però aquesta acció de superfície no és única, i l'oxigen ha d'ésser activat, segons el mateix Warburg, per metalls, en especial el Fe i el Mn, o per autoxidants orgànics, que en llurs passos de formes oxidades a reduïdes transporten l'oxigen d'uns cossos als altres. Citem, com els dos més característics d'aquests agents, el glutatíon, aïllat per Hopkins l'any 1921 (51) i el metilglixal, del qual s'han ocupat repetidament Neuberger (52) i els seus deixebles i col·laboradors, i entre ells C. Pi-Sunyer Bayo (53), treballant amb els enzimes de les fulles del til·ler i del llevat de cervesa.

Wieland creu en una acció d'activació sobre l'hidrogen, i esmenta, com a demostració clara, l'oxidació de l'àcid succínic que té lloc, com hem vist en pàgines anteriors, no solament en presència d'aire, sinó en un medi anaerobi, sempre que comptem amb un acceptor d'hidrogen (Mb o un altre).

Deixem ja la discussió d'aquest punt tan interessant, que, per altra banda, no ha d'influir en els resultats ni en la interpretació de la part experimental de la nostra tesi. La conclusió és que en els teixits es realitzen constantment actes d'òxido-reducció; és un medi propici, pel seu  $\nu H$ , a aquestes accions recíproques i reversibles.



Fins ací ens hem ocupat d'exposar en forma sucinta algunes nocions generals sobre els actes d'òxido-reducció. Els considerem indispensables com a premisa del nostre treball. Fixades aquestes idees, entrem ara en la part original d'aquesta tesi.

En els darrers anys, dos problemes han ocupat especialment l'atenció dels directors de l'Institut de Fisiologia de Barcelona i la de llurs col·laboradors immediats: el de la sensibilitat química del neumogàstric pulmonar i diferents temes en relació amb els mecanismes de regulació glucèmica i sensibilitat tròfica.

Com a resum de les seves idees sobre la segona qüestió, Pi Suñer (54) publicà, l'any 1927, les seves notes sobre la patogènia de la diabetis. En aquest treball, que ve a fixar opinions exposades en distintes ocasions des del 1919, es susciten nous problemes i es requereixen demostracions amb altres tècniques que confirmin, des de diversos punts de vista, les mateixes idees.

Per la nostra part, publicarem, fa uns mesos, amb M. Farran (55), unes notes experimentals i clíniques sobre aquest assumpte. Avui ataquem de nou el problema des de diferent perspectiva, i aprofitem una tècnica diferent de l'emprada aleshores i de la que férem ús en els esmentats treballs orientadors.

De les recerques de Pi Suñer es dedueix que tota dificultat en l'aprofitament de la glucosa pels teixits (per lligadura, per hemorràgia, per dilució sanguínia)<sup>1</sup> dona lloc a un reflex hiperglucèmic. Les vies d'aquest reflex han estat estudiades i precisades (56). Si el blo-

1. Per al coneixement de múltiples qüestions referents al reflex glucèmic, les seves condicions i naturalesa, etc., es pot recórrer als treballs de Pi Suñer, Carrasco Formiguera, Bellido, Houssay, Puche, Cervera, etc., continguts en els dos volums de *Trabajos del Instituto de Fisiología de Barcelona*, o en els vuit volums de *Treballs de la Societat de Biologia de Barcelona*.

queig parcial de l'organisme, d'un segment de certa extensió, o senzillament la disminució de la glucosa circulant, donen lloc a una reacció hiperglucèmia, és natural que la incapacitat relativa o absoluta dels teixits per a metabolitzar la glucosa, cosa que equival a una forma de bloqueig generalitzat a tot el cos, vagi seguida del mateix resultat. La hiperglucèmia diabètica seria conseqüència reaccional de les dificultats de la glucolisi. Aquestes dificultats serien el començ, el trastorn primari de la diabetis, i proporcionalment a elles, es produiria l'increment adequat de la glucogènia. Efectivament, un cop establerta la hiperglucèmia en relació a la intensitat del trastorn, es manté relativament constant al seu nou elevat nivell, mentre es mantinguin constants els factors d'alimentació, treball, eliminació urinària, etc.

En la diabetis, a més d'hiperglucèmia, s'observa, com ja se sap, hiperlipèmia. La lipèmia és una de tantes constants orgàniques que depèn, com d'altres, de mecanismes reguladors (57, 58, 59). Grafe (60) exposa el mecanisme de la regulació lipèmica i de la mobilització de les reserves grasses, especialment en el cas d'un augment de les necessitats per part dels teixits : la inanició n'és un, i podríem afegir també la diabetis. «Deu haver-hi algun mecanisme que, seguint les necessitats nutritives de les cèl·lules, asseguri l'arribada de les corresponents quantitats de grassa a la sang. Això s'ha d'aconseguir mitjançant modificacions en la circulació hística per innervacions vaso-motrius o bé per actes d'excitació nerviosa directa sobre les cèl·lules.»

I Geelmuyden (61) afirma que l'existència d'un mecanisme de regulació especial de la lipèmia i, per tant, de tota mobilització de grasses amb intervenció dels centres nerviosos corresponents, obra la possibilitat d'una explicació satisfactòria de la hiperlipèmia diabètica.

Hi ha, per tant, un reflex lipèmia semblant al

glucemiant demostrat per Pi Suñer, i provocat per la fam local o general de grasses per part dels teixits.

Dels treballs de Geelmuyden (62), Bloor (63), White (64), Allen (65), Joslin (66) i d'altres investigadors, es dedueix que la hiperlipèmia no depèn en primer terme de la ingestió de grasses, sinó més aviat de mobilització de les grasses pròpies; mobilització que és tant més gran en el diabètic, en igualtat d'altres circumstàncies, com més intens és el trastorn nutritiu inicial, com més gran la incapacitat per a metabolitzar la glucosa. De la qual cosa es desprèn que les variacions de la glucèmia i de la lipèmia són, entre certs límits, paral·leles.

Les corbes de hiperlipèmia provocada, obtingudes de manera semblant a com s'obtenen correntment les corbes d'hiperglucèmia són, segons Bloor i Gillete (67), més perllongades i puguen més, en els animals diabètics que en els normals, i la insulina restableix amb relativa facilitat (si bé no comparable a la intensitat de la seva acció sobre la glucèmia) el nivell lipèmic proper al normal. Per això, Bloor s'inclina a pensar que en la diabetis es produeixi la insuficiència d'una hormona que contribuiria a la desaparició dels lípids de la sang, hormona que facilitaria la fixació de les grasses pels teixits i potser la combustió de la mateixa grassa, i que sembla ésser d'origen hipofisari. Aquesta hormona actua d'acord amb un mecanisme nerviós que consisteix, com en la regulació de la glucèmia, en reflexos a receptor tròfic.

Aquests reflexos tròfics són els que donen lloc a fenòmens reaccionals específics. Quan, com en el cas particular de la diabetis, falti glucosa als teixits (que no poder-la metabolitzar és igual que si faltés), ja hem dit que es produirà un augment de la glucogènia amb hiperglucèmia i ensem hiperlipèmia. Això s'observa sempre que, per qualsevol causa, es dificulti el metabolisme

dels glúcids; sigui que faltin (inanició, intoxicació per la floridzina, la mateixa diabetis renal), sigui que hi hagin obstacles a aquest metabolisme, particularment per insuficiència pancreàtica (diabetis), o per perturbacions de la respiració — externa o interna — asfíxia (Stewart i Rogoff) (68), intoxicació per l'òxid de carbon (Macleod) (69) o bé intoxicació cianhídrica (Glassner) (70) o insuficiència de certs tipus de vitamines (Kogan) (71).

Els experiments de la sèrie exposada per Pi Suñer i Raventós demostren que és constant una elevació considerable de la lipèmia i glucèmia en la intoxicació aguda pel cianur sòdic en gossos, als quals s'ha administrat per injecció venosa una dosi suficient per a produir fenòmens clars d'intoxicació, però sense arribar a la mort.

Si recordem, per altra banda, els fenòmens produïts en els casos d'avitaminosi per falta de vitamina B, comprendrem que els fenòmens observats són de la mateixa naturalesa.

Abderhalden (72, 73), Okada (74), Ramoino (75), etc., han trobat en l'avitaminosi cocients respiratoris baixos que augmenten ràpidament per l'administració de vitamina B. Ahlgren (76) ha estudiat la respiració dels teixits en els animals en avitaminosi, i ha vist una depressió general dels fenòmens oxidatius.

No oblidem tampoc una afirmació fonamental de Bickel (77), qui afirma que en l'avitaminosi augmenta considerablement la quantitat de productes del metabolisme intermediari eliminats per l'orina; Cammidge digué ja el mateix, fa molts d'anys, en referir-se a la diabetis clínica (78).

W. R. Hess (79) sosté, seguint les idees d'Abderhalden, que l'estat avitaminòsic en els coloms és conseqüència d'un empobriment dels teixits en enzimes respiratòries. El quadre clínic del beri-beri, pot reproduir-se pel bloqueig respiratori, en intoxicar els animals amb àcid cianhídric.

La manca de diastases respiratòries (Atmungstoffe) produïda pel règim de l'arròs sense escorça i pulit, augmenta ràpidament, com és de preveure, per la intoxicació cianhídrica. És a dir, que si sotmetem dos lots de coloms a la mateixa dieta sense vitamina B, uns com a controls i els altres en estat d'intoxicació cianhídrica crònica, el quadre avitaminòsic es presentarà molt més aviat en aquests que en aquells, per sumació de causes productores d'iguals efectes.

El mateix Hess insisteix repetidament sobre aquestes idees i és clàssica la labor de la seva escola de Zuric en aquest camp. Afirmar (80) que la intoxicació cianhídrica no solament reproduïx el quadre clínic de l'avitaminosi millor que tots els tòxics que influeixen sobre els canvis respiratoris (cafeïna, arseniat potàssic, quina, etc.), sinó que la reacció secundària enfront dels agents modificadors d'aquests canvis (tiramina, feniletilamina) és la mateixa en ambdós casos.

Aquesta depressió respiratòria en els teixits l'ha confirmat, per anàlisi del contingut gasós de la sang, segons el mètode de Barcroft, un dels deixebles de Hess, (A. Fleisch) (81). Messerle (82), també de Zuric, ha trobat les mateixes lesions histològiques en animals avitaminòsics B i en els intoxicats amb cianur, lesions explicables, segons l'autor, per la hipo-respiració. Hem d'assenyalar com especialment important la degeneració grassosa muscular i, particularment, del miocardi.

L'objecte concret que ens hem proposat en la nostra present sèrie experimental constitueix una part del programa que ens proposem dur a terme amb el temps necessari. Hem començat per l'estudi de la incapacitat de reducció del múscle d'animals en intoxicació cianhídrica, i d'animals diabètics, paral·lelament amb l'estudi de les variacions hemàtiques concomitants, en glucosa i

grassa total. Tenim fetes, també, observacions sobre la intoxicació cianhídrica del llevat de cervesa. Seguirem més endavant els treballs amb l'estudi de la reducció muscular en els animals avitaminòsics i intoxicats amb l'arseniat sòdic. Pensem refer, també, seguint aquesta tècnica, els treballs de Pi Suñer i Puche (83) sobre la hiperglucèmia per l'asfíxia, estudiant, a més, les variacions de la lipèmia.

Una part d'aquests treballs és la que constitueix la nota present.

### PROTOCOL

Abans de dominar completament la tècnica, hem realitzat un gran nombre de valoracions que, naturalment, no incloem en aquesta memòria. Hem de fer constar, no obstant, que els seus resultats generals vénen a confirmar sempre les valors obtingudes en els experiments definitius.

### SÈRIE I

#### *Intoxicació per cianur potàssic, en granotes*

*Tècnica.* — Es prenen dues granotes de la mateixa grandària, ambdues en bon estat de nutrició, portades recentment al laboratori. Han d'ésser de la mateixa espècie (*Rana temporària* en les nostres observacions).

Se n'intoxica una amb cianur potàssic, per injecció en el sac limfàtic; es deixa passar mitja hora i, estant viva la granota, es fan determinacions de reducció segons el mètode de Thunberg, amb múscles de cada una de les granotes, normal i intoxicada.

## 1

Tubs	Mb. Sol. 1/1000	Fosfat K. (Sørensen)	Glicero- fosfat	Aigua destilada	Decol. en minuts
1.....	0'1	0'1	0'1	0'2	21
2.....	0'2	0'1	0'1	0'1	40
3.....	0'3	0'1	0'1	—	59
4.....	0'1	0'1	0'1	0'2	21
5.....	0'2	0'1	0'1	0'1	54
6.....	0'3	0'1	0'1	—	88

Temperatura, 34°.

Tubs 1, 2 i 3 : Granota normal.

Tubs 4, 5 i 6 : Granota intoxicada. Injecció CNK n/5, 1 cc.

Múscul, 0'2 gr. per tub.

## 2

Tubs	Mb. Sol. 1/1000	Fosfat K. (Sørensen)	Glicero- fosfat	Aigua destilada	Decol. en minuts
1.....	0'1	0'1	0'1	0'2	26
2.....	0'2	0'1	0'1	0'1	49
3.....	0'3	0'1	0'1	—	72
4.....	0'1	0'1	0'1	0'2	33
5.....	0'2	0'1	0'1	0'1	66
6.....	0'3	0'1	0'1	—	121

Temperatura, 36°.

Tubs 1, 2 i 3 : Granota normal.

Tubs 4, 5 i 6 : Granota intoxicada. Injecció CNK n/5 1 cc.  
Múscul, 0'2 gr. per tub. L'operació de preparar el trinxat muscular ha durat, per a cada una de les granotes, set minuts.

## 3

Tubs	Mb. Sol. 1/2000	Fosfat K. (Sørensen)	Glicero- fosfat	Aigua destilada	Decol. en minuts
1.....	0'1	0'1	0'1	0'2	9
2.....	0'2	0'1	0'1	0'1	17
3.....	0'3	0'1	0'1	—	34
4.....	0'1	0'1	0'1	0'2	14
5.....	0'2	0'1	0'1	0'1	29
6.....	0'3	0'1	0'1	—	54

Temperatura, 36°.

Tubs 1, 2 i 3 : Granota normal.

Tubs 4, 5 i 6 : Granota intoxicada, CNK n/5 1 cc. en vint-i-set minuts.

Múscul, 0'2 per tub. Trinxat obtingut en quatre minuts.

## 4

Tubs	Mb. Sol. 1/2000	Fosfat K. (Sörensen)	Glicero- fosfat	Aigua destilada	Decol. en minuts
1.....	0'1	0'1	—	0'2	34
2.....	0'2	0'1	—	0,1	56
3.....	0'3	0'1	—	—	86
4.....	0'1	0'1	—	0'2	52
5.....	0'2	0'1	—	0'1	74
6.....	0'3	0'1	—	—	—

Temperatura, 34°.

Tubs 1, 2 i 3 : Granota normal.

Tubs 4, 5 i 6 : Granota intoxicada, CNK n/5 i cc. en quaranta-dos minuts.

Múscul, 0'2 per tub. Trinxat en sis minuts.

Observi's com l'absència del donador d'hidrogen retarda considerablement els temps de decoloració i irregularitza la marxa de l'experiment.

## 5

Tubs	Mb. Sol. 1/2000	Fosfat K. (Sörensen)	Glicero- fosfat	Aigua destilada	Decol. en minuts
1.....	0'1	0'1	0'1	0'2	13
2.....	0'2	0'1	0'1	0'1	21
3.....	0'3	0'1	0'1	—	40
4.....	0'1	0'1	0'1	0'2	19
5.....	0'2	0'1	0'1	0'1	41
6.....	0'3	0'1	0'1	—	60

Temperatura, 35°.

Tubs 1, 2 i 3 : Granota normal.

Tubs 4, 5 i 6 : Granota intoxicada, CNK n/5 i cc.

Múscul, 0'2 per tub. Trinxat en sis minuts.

## SÈRIE II

*Llevat de cervesa*

Per a intoxicar el llevat posem en una càpsula de Petri una capa fina de llevat coberta per la solució de cianur potàssic durant un temps variable. Des-



prés es seca el llevat (com hem fet amb el normal) mitjançant glasa, fins a poder-la pesar fàcilment amb la balança de torsió sense que s'adhereixi al platet.

## 1

Tubs	Llevat cervesa	Mb. Sol. 1/5000	Fosfat K.	Glicero- fosfat	Aigua destilada	Decol. en minuts
1.....	0'5	0'2	0'1	0'1	—	11
2.....	0'4	0'2	0'1	0'1	0'1	13
3.....	0'3	0'2	0'1	0'1	0'2	9
4.....	0'2	0'2	0'1	0'1	0'3	8
5.....	0'5	0'2	0'1	0'1	—	10
6.....	0'4	0'2	0'1	0'1	0'1	10
7.....	0'3	0'2	0'1	0'1	0'2	7
8.....	0'2	0'2	0'1	0'1	0'3	6

Temperatura, 36°.

Tubs 1, 2, 3 i 4 : Llevat normal.

Tubs 5, 6, 7 i 8 : Llevat intoxicat.

(La quantitat de llevat no sembla influir d'una manera apreciable en el temps de decoloració.)

## 2

Tubs	Mb. Sol. 1/5000	Fosfat K.	Glicero- fosfat	Aigua destilada	Decol. en minuts
1.....	0'1	0'2	0'1	0'2	8
2.....	0'2	0'2	0'1	0'1	10
3.....	0'3	0'2	0'1	—	9
4.....	0'4	0'2	0'1	—	8
5.....	0'1	0'2	0'1	0'2	5
6.....	0'2	0'2	0'1	0'1	6
7.....	0'3	0'2	0'1	—	2
8.....	0'4	0'2	0'1	—	—

Tubs 1, 2, 3 i 4 : Llevat normal.

Tubs 5, 6, 7 i 8 : Llevat intoxicat.

Com que la decoloració ha estat molt ràpida i la lectura molt difícil, malgrat apreciar-se clarament una

acceleració en els tubs 5, 6, 7 i 8, es repeteix l'experiment en les mateixes condicions amb blau de metilèn a l'1/500.

3

Tubs	Mb. Sol. 1/500	Fosfat K.	Glicero- fosfat	Aigua destilada	Decol. en minuts
1.....	0'1	0'2	0'1	0'2	29
2.....	0'2	0'2	0'1	0'1	65
3.....	0'3	0'2	0'1	—	—
4.....	0'1	0'2	0'1	0'2	12
5.....	0'2	0'2	0'1	0'1	22
6.....	0'3	0'2	0'1	—	37

Temperatura, 37°.

Tubs 1, 2 i 3 : Llevat normal.  
Tubs 4, 5 i 6 : Llevat intoxicat.  
0'4 gr. de llevat en cada tub.

4

Tubs	Mb. Sol. 1/500	Fosfat K.	Glicero- fosfat	Aigua destilada	Decol. en minuts
1.....	0'05	0'2	0'1	0'1	9
2.....	0'1	0'2	0'1	0'05	16
3.....	0'15	0'2	0'1	—	23
4.....	0'05	0'2	0'1	0'1	7
5.....	0'1	0'2	0'1	0'05	12
6.....	0'15	0'2	0'1	—	16

Temperatura, 34°.

Tubs 1, 2 i 3 : Llevat normal.  
Tubs 4, 5 i 6 : Llevat intoxicat.  
0'4 gr. de llevat en cada tub.

5

Es repeteix la valoració amb la mateixa quantitat de llevat i en la mateixa forma amb blau de metilèn a l'1/500. A les tres hores no s'ha decolorat completament cap mostra, però es veu considerablement més adelantada la decoloració en els tubs corresponents al llevat intoxicat.

## 6

Tubs	Mb. Sol. 1/500	Fosfat K.	Glice- rofosfat	Aigua destil·lada	Decol. en minuts
1.....	0'05	0'2	0'1	0'1	10
2.....	0'1	0'2	0'1	0'05	16
3.....	0'15	0'2	0'1	—	20
4.....	0'05	0'2	0'1	0'1	7
5.....	0'1	0'2	0'1	0'05	9
6.....	0'15	0'2	0'1	—	24

Temperatura, 35°.

Tubs 1, 2 i 3 : Llevat normal.  
Tubs 4, 5 i 6 : Llevat intoxicat.  
0'3 gr. de llevat en cada tub.

## SÈRIE III

*Gossos en estat d'intoxicació cianhídrica aguda. Estudi paral·lel de la capacitat de reducció del múscul i de les corbes de glucèmia i lipèmia*

*Tècnica.* — Es determina la glucèmia i la lipèmia en gossos prèviament anestesiats amb cloralosa, i immediatament se'ls pren un petit tros de múscul, generalment del coll, per dissecar-se ja en cercar la jugular a fi de fer les preses de sang; lligat el múscul, es procedeix a la determinació del poder de reducció del tros separat (després de rentar-lo bé); després d'això es dona la injecció intravenosa de cianur potàssic, i de mitja a dues hores més tard (en el moment que sembli de màxima gravetat la intoxicació cianhídrica), es repeteixen les mateixes operacions : s'investiga novament la capacitat de reducció muscular, la glucèmia i la lipèmia.

## 1

Gos de 12 kg., anestèsia 135 cc., cloralosa intravenosa, a les 4.20 h.

		Glucèmia	Lipèmia total
4.40 h.	Primera presa de sang.....	0'89	0'34
5 h...	Segona presa de sang.....	0'93	0'36
5.10 h.	Extirpació del primer múscul.....	—	—
5.15 h.	Injecció de 7 mgr. de CNK, via endovenosa.....	—	—
5.45 h.	Tercera presa de sang.....	1'22	0'39
5.35 h.	Separació del segon múscul.....	—	—
6 h...	Quarta presa de sang.....	1'24	0'43

L'animal ha presentat els símptomes habituals de la intoxicació cianhídrica amb respiració difícil.

Tubs	Mb. Sol. 1/1000	Fosfat K.	Glicero-fosfat	Aigua destilada	Decol. en minuts
1.....	0'4	0'2	0'1	—	13
2.....	0'3	0'2	0'1	0'1	10
3.....	0'2	0'2	0'1	0'2	7
4.....	0'4	0'2	0'1	—	58
5.....	0'3	0'2	0'1	0'1	42
6.....	0'2	0'2	0'1	0'2	31

Temperatura, 34°.

Tubs 1, 2 i 3 : Múscul anterior a la intoxicació.

Tubs 4, 5 i 6 : Després de la injecció.

0'2 gr. de múscul en cada tub.

Trinxat : Per al primer múscul, quatre minuts; per al segon, nou.

Aquesta diferència de temps, com ha demostrat Ahlgren, pot haver influït en la considerable diferència de temps entre uns i altres tubs.

## 2

Gossa d'11 kg.

		Glucèmia	Lipèmia total
4.50 h.	Anestèsia 120 cc. cloralosa.....	—	—
5.10 h.	Primera presa de sang.....	0'72	0'34
5.35 h.	Segona presa de sang.....	0'78	—
5.40 h.	Extirpació del primer múscul.....	—	—
5.45 h.	Injecció 8 mgr. CNK (intravenosa).	—	—
6 h...	Tercera presa de sang.....	0'81	0'41
7 h...	Extirpació del segon múscul.....	—	—
7.10 h.	Quarta presa de sang.....	1'26	0'61

Tubs	Mb. Sol. 1/2000	Fosfat K.	Glicero- fosfat	Aigua destilada	Temps en minuts
1.....	0'3	0'2	0'1	—	23
2.....	0'2	0'2	0'1	0'1	18
3.....	0'1	0'2	0'1	0'2	11
4.....	0'3	0'2	0'1	—	39
5.....	0'2	0'2	0'1	0'1	31
6.....	0'1	0'2	0'1	0'2	22

Temperatura, 37°.

Tubs 1, 2 i 3 : Múscul anterior a la intoxicació.

Tubs 4, 5 i 6 : Múscul intoxicat.

0'2 gr. de múscul en cada tub. Trinxat en sis minuts per a cada múscul.

## 3

Gos de 17 kg.

		Glucèmia	Lipèmia total
4.45 h.	Injecció 200 cc. cloralosa.....	—	—
5.20 h.	Primera presa de sang.....	1'10	0'42
5.35 h.	Segona presa de sang.....	1'12	0'39
5.40 h.	Separació del primer múscul.....	—	—
5.45 h.	Injecció 12 mgr. CNK (intravenosa).	—	—
6.10 h.	Tercera presa de sang.....	2'51	0'46
6.50 h.	Quarta presa de sang.....	2'38	0'51
7 h...	Separació del segon múscul.....	—	—

Entre 5.48 i 6, respiració artificial al gos per a evitar l'asfíxia. Amb això es refà fàcilment, recobrant després el ritme respiratori normal.

Tubs	Mb. Sol. 1/2000	Fosfat K. (Sørensen)	Glicero- fosfat	Aigua destilada	Decol. en minuts
1.....	0'3	0'1	0'1	—	18
2.....	0'2	0'1	0'1	0'1	—
3.....	0'1	0'1	0'1	0'2	11
4.....	0'3	0'1	0'1	—	78
5.....	0'2	0'1	0'1	0'1	40
6.....	0'1	0'1	0'1	0'2	24

Temperatura, 38'5°.

Tubs 1, 2 i 3 : Múscul normal.

Tubs 4, 5 i 6 : Múscul després d'intoxicat el gos.

0'2 gr. de múscul en cada tub. Trinxat en sis minuts.

4

Gossa de 16 kg.

	Glucèmia	Lipèmia total
3.45 h. Injecció 180 cc. cloralosa.....	—	—
4.20 h. Primera presa de sang.....	1'02	0'41
4.35 h. Segona presa de sang.....	1'02	—
4.40 h. Separació del primer múscul.....	—	—
5 h... Injecció 25 cc. de cloralosa i 12 mgr. CNK (intravernosa).....	—	—
5.30 h. Tercera presa de sang.....	1'43	0'47
6 h... Separació del segon múscul.....	—	—
6.10 h. Quarta presa de sang.....	1'66	0'51

Tubs	Mb. Sol. 1/2000	Fosfat K.	Glicero-fosfat	Aigua destilada	Decol. en minuts
1.....	0'4	0'1	0'1	—	38
2.....	0'2	0'1	0'1	0'2	19
3.....	0'1	0'1	0'1	0'3	9
4.....	0'4	0'1	0'1	—	119
5.....	0'2	0'1	0'1	0'2	60
6.....	0'1	0'1	0'1	0'3	23

Temperatura, 35°.

Tubs 1, 2 i 3 : Múscul normal.

Tubs 4, 5 i 6 : Múscul intoxicat. Trinxat en set minuts.

5

Gossa de 14 kg.

	Glucèmia
3.30 h. Anestèsia 150 cc. cloralosa.....	—
3.55 h. Primera presa de sang.....	0'76
4.15 h. Segona presa de sang.....	0'75
4.30 h. Injecció 10 mgr. CNK (intravenosa).....	—
4.54 h. Tercera presa de sang.....	1'15
5.20 h. Quarta presa de sang.....	1
5.30 h. Separació del múscul.....	—
5.40 h. Cinquena presa de sang.....	1'01

Tubs	Mb. Sol. 1/2000	Fosfat K.	Glicero-fosfat	Aigua destilada	Decol. en minuts
1.....	0'3	0'1	0'1	—	37
2.....	0'2	0'1	0'1	0'1	20
3.....	0'1	0'1	0'1	0'2	6
4.....	0'3	0'1	0'1	—	46
5.....	0'2	0'1	0'1	0'1	28
6.....	0'1	0'1	0'1	0'2	10

Temperatura, 34'5°.

Tubs 1, 2 i 3 : Múscul normal.

Tubs 4, 5 i 6 : Múscul intoxicat.

0'2 gr. de múscul en cada tub. Trinxat en cinc minuts.

## SÈRIE IV

*Observacions en animals diabètics*

*Tècnica.* — Es fa l'observació en un animal sa, prenent-li, en començar la pancreatectomia, un tros de múscul i una mostra de sang. Uns dies després, quan s'observen ja trastorns diabètics, glucosúria accentuada, i l'animal es troba en mal estat, s'examina un segon tros de múscul. En tots els animals s'ha fet l'autòpsia per a verificar si l'extirpació del pàncreas ha estat total.

## I

Gos de 14 kg.

Anestèsia cloral-morfina : 15 cc. per injecció intraperitoneal.  
Glucèmia, 0'61; lipèmia, 0'33.

Pancreatectomia total en un temps, segons tècnica de Hedon-Allen.

Sis dies més tard, orina amb glucosa fortament positiva.  
Glucèmia, 1'96; lipèmia, 0'53.

Tubs	Mb. Sol. 1/2000	Fosfat K.	Glicero- fosfat	Aigua destilada	Decol. en minuts
1.....	0'3	0'1	0'1	—	29
2.....	0'2	0'1	0'1	0'1	20
3.....	0'1	0'1	0'1	0'2	11
4.....	0'3	0'1	0'1	—	46
5.....	0'2	0'1	0'1	0'1	29
6.....	0'1	0'1	0'1	0'2	14

Temperatura, 35'5°.

Tubs 1, 2 i 3 : Múscul abans de l'operació. Trinxat en sis minuts.

Tubs 4, 5 i 6 : Múscul sis dies després de l'operació.  
Trinxat en set minuts. 0'2 gr. de múscul en cada tub.

2

Gos de 13 kg.

Anestèsia cloral-morfina : 13 cc. intraperitoneal.

Pancrectomia total en un temps, segons tècnica de Hedon-Allen.

Glucèmia, 0'82; lipèmia, 0'32, abans de l'operació.

Glucèmia, 1'28; lipèmia, 0'47, als quatre dies.

Tubs	Mb. Sol. 1/2000	Fosfat K.	Glicero- fosfat	Aigua destilada	Decol. en minuts
1.....	0'4	0'1	0'1	—	22
2.....	0'3	0'1	0'1	0'1	16
3.....	0'2	0'1	0'1	0'2	10
4.....	0'1	0'1	0'1	0'3	6
5.....	0'4	0'1	0'1	—	40
6.....	0'3	0'1	0'1	0'1	29
7.....	0'2	0'1	0'1	0'2	21
8.....	0'1	0'1	0'1	0'3	11

Temperatura, 36°.

Tubs 1, 2, 3 i 4 : Múscul abans de l'operació. Trinxat en sis minuts.

Tubs 5, 6, 7 i 8 : Múscul als cinc dies després de l'operació. 0'2 gr. de múscul en cada tub. Trinxat en sis minuts.

Les solucions de fosfat i glicerofosfat potàssic emprades per nosaltres han estat decinormals. La primera, a partir de la mescla de Sorensen. Les de blau de metilèn es preparen partint d'una solució de reserva a l'1/500 guardada a les fosques.

En la fotografia es pot veure la instal·lació completa. Després de pesat el múscul en la balança de torsió A, es passa ràpidament als tubs B, que contenen ja totes les solucions, menys el Mb, que s'hi afegeix al darrer moment; es fa el buit amb la bomba C, i després es submergeixen en el bany D. El motor elèctric E assegura el moviment de l'aigua per a mantenir uniforme la temperatura en tot el termostat, la flama es regula per un termo-regulador de mercuri, F.



L'estudi del  $rH$  i dels processos d'òxido-reducció, avui d'un gran interès biològic, tindrà més endavant un interès clínic?

Ès molt difícil l'afirmació, però gairebé sempre tot progrés en Fisiologia té més o menys tard, per via directa o indirecta, repercussió en el camp clínic. I conèixer el potencial d'òxido-reducció en els teixits és, certament, un gran progrés.

Fins ara, tanmateix, els problemes pràctics suscitats entorn d'aquestes qüestions és encara escàs.

Assenyalem, per exemple, que R. Wolf (83) fa algunes indicacions en aquest sentit, en relació al diagnòstic diferencial entre distintes bactèries del grup Eberth-Coli.

Assenyalem, sobretot, els treballs fonamentals de Warburg i els seus col·laboradors, reunits en un llibre recent, sobre la cèl·lula cancerosa (83). Treballs experimentals són, potser, els que donaran la clau del terrible problema, fins ara insoluble, de l'origen del cranc. Sigui o no sigui així, és tan gran l'interès de les recerques, i és tan lògica i clara l'exposició de les idees, que no podem estar-nos de reproduir unes pàgines com a colofó al nostre treball.

«Si posem un tall de carcinoma en una solució de Ringer i estudiem el seu metabolisme, veurem amb sorpresa que els canvis respiratoris són menys intensos que els que presenta l'epiteli en repòs, o el fetge o el ronyó i molt menys que els del teixit embrionari. Aquesta experiència ens serví de punt de partida per a l'estudi del metabolisme de la cèl·lula cancerosa : i descobrirem que la cèl·lula cancerosa, a més de la respiració, compta amb una segona reacció capaç de proporcionar-li l'energia per a la seva rapidíssima reproducció. La cèl·lula cancerosa no solament oxida el sucre, sinó que, a més, el

fa fermentar fins a àcid làctic, i en tal proporció, que produeix fins al 10 i 12 per 100 del seu propi pes d'àcid làctic per hora.

La fermentació làctica del sucre constitueix l'origen d'una gran part de l'energia desenvolupada en la cèl·lula cancerosa; energia, per tant, que no prové de l'oxidació, sinó de la glucolisi, del desdoblament molecular anaerobi.

En medi anaerobi, els tumors malignes i els benignes es comporten de la mateixa manera; en canvi, en atmosfera d'aire, els tumors malignes conserven una activitat anaeròbia considerable; la seva respiració és insuficient per a cobrir i anul·lar la glucolisi, contràriament al que passa en els tumors benignes. Per molècula d'oxigen consumida, els tumors malignes produeixen tres o quatre cops més àcid làctic que els benignes.

La rapidesa de multiplicació cel·lular és una funció de la relació  $\frac{\text{fermentació}}{\text{oxidació}}$  i els resultats són encara més sorprenents si comparem el creixement dels tumors benignes amb el creixement embrionari. El poder fermentatiu de les cèl·lules en aquest creixement desapareix, tanmateix, en medi aerobi.

Hem estudiat particularment els teixits epitelial i conjuntiu, d'on es deriven la majoria dels tumors malignes (sarcomes, carcinomes), i el resultat de les nostres recerques ha estat la convicció de que existeix una lleugera activitat fermentativa en tots els teixits, fins en els adults, de manera que pot afirmar-se que els caràcters propis del metabolisme dels teixits embrionaris no desapareixen en absolut en tota la vida. Un epiteli jove presenta un poder fermentatiu superior a un epiteli en repòs, però inferior a l'epiteli embrionari, i molt inferior a l'epitelioma.»

Vegin-se en aquests paràgrafs l'interès teòric i, segurament en el seu dia, pràctic, de la fase fermentativa-anoxibiòtica de la vida cel·lular.

Si, per altra banda, recordem, també, en aquest lloc i entre molts d'altres exemples possibles, les recerques sobre energètica i quimisme del múscle portades a cap per Hill i Meyerhof, puntualitzant la doble fase, anaeròbia i oxidativa, i apropem a aquestes nocions les que devem a Embden i la seva escola sobre el metabolisme intermediari, i a Neuberg i els seus col·laboradors sobre la fermentació alcohòlica, amb els seus mecanismes i la producció de les mateixes substàncies que en la nutrició animal, amb el seu pas de fermentació a oxidació segons es tracti de llevat baix o de llevat alt, i com aquestes dues maneres de viure la cèl·lula del *sacharomyces* reproduïx la totalitat del metabolisme dels animals, comprendrem tota la importància del tema que ens ocupa i tot el que promet el seu estudi.

#### CONCLUSIONS

1. El mètode de Thunberg constitueix una tècnica senzilla i econòmica per l'estudi de problemes en relació amb la capacitat de reducció dels teixits.
2. Acompanya als diferents fenòmens explicables per una disminució (qualsevol que sigui la causa) de la respiració interna, una minva en la capacitat de reducció tisular.
3. En efecte, el múscul de animals intoxicats amb cianur potàssic decolora més lentament el blau de metilèn que els controls normals.
4. El mateix s'observa en els animals diabètics.
5. La intoxicació del llevat de cervesa pel cianur potàssic dóna lloc a una acceleració de la decoloració

del blau de metilèn. No podem, per ara, adelantar cap explicació que resolgui aquesta aparent contradicció amb el que passa en el múscul.

6. Els mateixos resultats aconseguits en aquestes recerques constitueixen una dada de més, i que creiem d'interès, en confirmació de les idees de Pi Suñer sobre la patogènia de la diabetis.

*Institut de Fisiologia.*  
*Facultat de Medicina de Barcelona.*

#### BIBLIOGRAFIA

1. *Lavoisier*, Química general. Trad. catalana d'E. Baltà. Publ. de la Soc. Catalana de Química, 1919.
2. *Lavoisier*, Cita de *Alcobé*, Discurs inaugural de curs a la Univ. de Barcelona, 1914.
3. *Dumas, J. B.*, De l'acció del calòric en els cossos orgànics. París, 1838.
4. *Panum*, Virchow's Arch, 1863. Cita de *Gautier*.
5. *Selmi*, Sulla esistenza di principi alcaloidici naturali nelle visceri freschi et putrefatti. Acad. Scienze Bologna, 1875.
6. *Gautier, A.*, Journ. de l'anat. et. de la physiol., 360, oct.; 1881.
7. *Gautier, A.*, Les toxines microbiennes et animales. Soc. d'Edit. Scientifiques. París, 1896.
8. *Gautier, A.*, La Chimie de la Cellule vivante. Masson et Cie. París 1898.
9. *Pi Suñer, A.*, La vida anaerobia. Tesis doctoral. Gaceta Médica Catalana, 1901.
10. *Carracido, J. R.*, Química biológica, 2.<sup>a</sup> ed.; Madrid 1917.
11. *Pasteur, L.*, Oeuvres, II, 137 y 544; 1861. Masson. París, 1922.
12. *Meyerhof, O.*, La dynamique chimique de la vie (apres R. H. May). Cours et Conf. Fac. de Med. París, 1926.
13. *Thunberg, T.*, Skand. Arch. f. Physiol., XI, 1; 1917.
14. *Ahlgren, G.*, Proceedings of the Staff Meetings of the Mayo Clinic, III, 86; 1927.

15. Meyerhof, O., *Klin. Wochenschr.*, IV, 341; 1925.
16. Pi Suñer, A., *Les distrófies per retard*. Monograf. Méd. Barcelona, 1928.
17. Dresser, *Zeitschr. f. Biol.*, XXI, 41; 1885.
18. Ehrlich, P., *Das Sauerstoffbedürfniss des Organismus*, 1886.
19. Corral, J. M., *La reacción actual de la sangre*. Tesis doctoral, 1914.
20. Clark, W. M., *The determination of hydrogen ions*, Williams and Wilkins Co. Baltimore, 1922.
21. Canna, E. K., Cohen, B., i Clark, W. M., *Studies on oxidation reduction X. Reduction potentials in Cell suspensions*. Public Health Reports, sup. 55; 1925.
22. Clark, W. M., Cohen, B., i Gibbs, H. D., *Id. id.* V. P. H. Reports, 1924.
23. Clark, W. M., Cohen, B., i Gibbs, H. D., *Id. id.* X. Methylene blue; 1925.
24. Wurmser, R., *Les oxidations en Biologie*. A. Chanine. París, 1927.
25. Needhan, H., i Needhan, D. M., *Protoplasm*, I, 256; 1926.
26. Rapkine i Wurmser, C. R. de la Soc. de Biol., XCIV, 989 y 1347. 1926.
27. Vernon, *Journ. of Physiol.*, XLIII, 241; 1911.
28. Lipschitz, A. *Zeitschr. f. Physiol. Chem.*, CIX, 139; 1920.
29. Lipschitz, A. *Pflüger's Arch.*, CLXXXIII, 275; 1920.
30. Thunberg, T., *Oppenheimer-Pincussen, Die Fermente und ihre Wirkungen*, III, 1118. G. Thieme. Leipzig, 1928.
31. Ahlgren, G., *Zur kenntnis der tierischen Geweboxidation*. Lund, 1925.
32. Ahlgren, G., *Abderhalden's. Handbuch des Biol. Arb.*, 1925.
33. Michaelis, L., *Oxidations-Reductions-Potentiale*. Springer. Berlin, 1929.
34. Lewis, G., N., *Valence and the structure of atoms and Molecules*. Chemical Catalog Co. New-York, 1923.
35. Batelli i Stern, *Bioch. Zeitschr.*, XXX, 172; 1911.
36. Bach. Cita de Rondoni. *Compendio de Bioquímica*. Editorial «Labor», 2.<sup>a</sup> ed. Barcelona, 1928.
37. Lambling, E., *Precis de Biochimie*, 3.<sup>a</sup> ed. Masson. París, 1921.
38. Abelous i Aloy, C. R., *Acad. des Sciences*, CXXXVII; 1903.
39. Abelous i Aloy, C. R., *Soc. de Biol.*, LV, 155; 1904.
40. Batelli i Stern, L., *Bioch. Zeitschr.*, XXIX, 130; 1910.
41. Pi Suñer Bayo, J., *Sobre una possible deshidrogenasa de la vaina del pèsol*. Soc. de Biol. de Barcelona. (Per publicar.)
42. Parnas, *Bioch. Zeitschr.*, XXVIII, 274; 1910.
43. Widmark, O., *Skand. Arch. f. Physiol.*, LXI, 200; 1921.
44. Hopkins, F. G., *Discurso inaugural del XII Congreso internacional de Fisiología*. Stockholm, 1926.
45. Batelli i Stern, L., *Bioch. Zeitschr.*, XXVIII, 145; 1910.
46. Ollsson, *Skand. Arch. f. Physiol.*, XLI, 77; 1921.
47. Thunberg, T., *Skand. Arch. f. Physiol.*, XLVI, 339; 1925.

48. Langmuir, Journ. Am. Soc. Chim., XLI, 868; 1919.
49. Warburg, O., Zeitschr. f. physiol. Chem., LIX, 112; 1909.
50. Warburg, O., Bioch. Zeitschr., CXIX, 134; 1921.
51. Hopkins, F. G., Bioch. Journ., XV, 286; 1921.
52. Neuberg, C., Oppenheimer's Handbuch des Bioch. II auf., II; 1924.
53. Pi Suñer Bayo, C., Bioch. Zeitschr., CCXIII, 495; 1929.
54. Pi Suñer, A., Inst. de Fisiol., II, 241. Barcelona, 1927.
55. Pi Suñer Bayo, J., i Ferran, M., Rev. Med. de Barcelona, XI, 493, 1929.
56. Pi Suñer, A., Treballs de la Soc. de Biol., VII, 253. 1919.
57. Mayer i Schaefer, Journ. de Phys. et Path. gen., XV, 510 y 534; 1913.
58. Terroine i Weil, Journ. de Phys. et Path. gen., XV, 549; 1913.
59. Raab, Zeitschr. f. die gesam. exp. Med. XLIX, 179; 1926.
60. Grafe, E., Oppenheimer's Handbuch der Bioch., IX, 2.<sup>a</sup> ed.; 1925.
61. Geelmuyden, H. C., Ergeb. der Phys., XXVI, 92; 1928.
62. Geelmuyden, H. C., Ergeb. der Phys., XXI, 274; 1923.
63. Bloor, Journ. of Biol. Chem., XXVI, 424; 1926.
64. White, Quart. Med. Journ., XIX, 159; 1926.
65. Allen, Journ. Metab. Rescarch., II, 219; 1925.
66. Joslin, Treatement of the diab. mell., 4.<sup>a</sup> ed.; Lea and Febiger. Filadelfia y New York, 1928.
67. Bloor i Gilette, Proc. Soc. of. exp. Biol. and Med., XXII, 251; 1925.
68. Stewart i Rogoff. Cita de Banting, Best, Macleod y Noble. Amer. Journ. of Phys., LXII, 559; 1925.
69. Banting, Best, Macleod i Noble, Amer. Journ. of Phys., LXII, 559; 1925.
70. Glassner, K., Wiener klin. Woch., 26; 1909.
71. Kogan, V. M., Cita de Pi Suñer (54).
72. Abderhalden, E., Pflüger's Arch., CLXXXVII, 80; 1921.
73. Abderhalden, E., Id. id., CXCH, 163; 1921.
74. Okada, Japan Med. World, III, 102; 1925. Cita de Bickel. (17).
75. Ramoino, Archiv. Ital. Biol., LXV, I; 1916.
76. Ahlgren, G., Skand. Arch. f. Phys., XLIV, 186; 1923.
77. Bickel, A., Bioch. Zeitschr., CXLVI, 473; 1924.
78. Cammidge, Glycosuria and allied conditions. Ed. Arnold. Londres, 1923.
79. Hess, W. R., Zeitschr. f. phys. Chem., CXVII, 284; 1921.
80. Hess, W. R., Arch. f. exp. Path. u. Pharmak., CIII, 366; 1924.
81. Fleisch, A., Id. id., VC, 17; 1922.
82. Messerle, N., Virchow's Arch., CCLXII, Heft II, 305; 1926.
83. Wolf, R., Presse Medicale, pág. 1226; 1928.
84. Warburg, O., Metabolisme Cellulaire, et metabolisme des tumeurs. Alcan. París, 1928.