

**INCORPORACION DEL PROF. DR. HECTOR CROXATTO REZZIO
COMO ACADEMICO DE NUMERO**

La Academia de Ciencias celebró sesión pública en el Salón de Conferencias del Colegio de Ingenieros de Chile bajo la presidencia del titular, académico señor Carlos Mori, el día 11 de diciembre de 1969, a las 19 horas, con el objeto de recibir como Miembro de Número al profesor Dr. Héctor Croxatto Rezzio.

En su discurso de incorporación, el académico doctor Croxatto se refirió a la "Función renal y presión sanguínea". Fue recibido por el académico doctor Jorge Mardones. Ambos discursos se publican a continuación.

**FUNCION RENAL Y PRESION
SANGUINEA**

(Discurso de incorporación)

Me honráis y me comprometéis profundamente incorporándome a esta Academia de Ciencias. La solemnidad y trascendencia no pueden ser ajenas a este acto, por la reciprocidad de severos compromisos que involucra y porque es imposible para mí evadir el juicio retrospectivo de una labor que en gran parte pertenece a un pasado que se hace distante. Ninguna instancia puede ser más crítica para el científico como la de repasar su propia obra, para la cual no hay más indulgencia que el saber de antemano que toda creación científica está destinada, con los años, a ser inexorablemente sobrepasada. Hay momentos supremos para el investigador, cuando los ansiados resultados emergen a la luz, brillando como frescas corolas de inigualable belleza, flores que abren al fin de esas yemas grávidas de incertidumbre y de esperanza. Pero el tiempo las marcha, y quien investiga empieza a vivir el ansia sin cesar renovada de ver otra vez una nueva floración. Además, como lo expresé recientemente, el pasar del tiempo hace que el hombre que vuelve a analizar lo que fue su creación, diste mucho del que la produjo. Es inevitable que cierta turbulencia interior lo inunde y sienta la desazón, no tanto por lo poco logrado, sino por lo mucho que dejó de acometer.

Felizmente hay algo que aligera mi tarea de hoy, y es que lo que voy a relatar es el balance de un quehacer en el que han participado una multitud de personas, que son jóvenes estudiantes o profesionales, salidos de los tres distintos centros de investigación que contribuí a formar o desarrollar: los laboratorios de Fisiología del Instituto de Educación Física, del Departamento de Ciencias de la Facultad de Filosofía de la Universidad de Chile, y de la Facultad de Medicina de la Universidad Católica. Muchos de ellos son hoy connotados investigadores y maestros de nuevas generaciones. A todos ellos les expreso mi profundo agradecimiento, porque sin su valiosa asistencia, mis pasos habrían sido demasiado menudos, y también porque sin ellos no habría cumplido la finalidad esencial del científico. En efecto, si bien la investigación satisface ansias incomparables de quien la realiza, carecería de sentido solidario y humano si no se transmitiera, como un mensaje inspirador, al ámbito inmediato de trabajo. Es por eso que me siento fortalecido al pensar que mis colaboradores, que me regalaron horas espléndidas de un convivir en la más preciosa labor que pude elegir para mí, permitieron que en ellas se cumpliera el compromiso esencial que impone la vocación de científico. Son ellos los que pusieron los pergaminos que vuestra benevolencia pudo hallar en mi persona para formularme tan honrosa invitación. No podría nombrar a todos los que me transmitieron su experiencia y saber o me brindaron ayuda. Son tantos los que de una u otra manera hicieron posible mi consagración a la investigación fisiológica o me alentaron en el largo camino que lleva cuatro décadas, pero no puedo dejar de mencionar a uno, al que es mi maestro incomparable, Eduardo Cruz Coke, Miembro de Número de esta Academia.

Cuando era niño, la aspiración de ser algún día médico parecía colmar las ansias de mis sueños; pero ya mi primer contacto con la Escuela de Medicina fue una experiencia inesperada y turbadora, al quedar deslumbrado por el brillo fulgurante y la diáfana expresión de un gran profesor, Juan Noé. El expandió ante mis ojos el mundo maravilloso de la Biología. La admirable

BIBLIOTECA NACIONAL



949310

armonía de los procesos que ocurren en los seres vivos me dejó atónito y el filo de su verbo caló muy hondo, conmoviendo los cimientos de mi primera vocación. Sin embargo, todas esas vívidas imágenes de esos seres y procesos, desde mi banco de estudiante me parecían demasiado distantes e intangibles. Casi todas las cosas tan hermosas que surgían de su incomparable relato, llegaban allí para nuestro embeleso, y nos enriquecían con inspiradoras imágenes. Pero, ¡cuánto más hermoso hubiese sido participar de sus descubrimientos! Con esta disposición llegué a conocer a Cruz Coke y gracias a él pude verme envuelto realmente en algo que imaginaba inabordable: entrar en el juego auténtico de la búsqueda científica. Como todos mis condiscípulos, me sentí, por cierto, atraído por la originalidad de su estilo, por la autenticidad de su mensaje. Traía la voz nueva que algo trascendental estaba emergiendo en las ciencias biológicas. Un tropel de nuevos conocimientos anunciaban el advenimiento de los grandes descubrimientos bioquímicos de nuestra era. Pero, además, sus clases eran un látigo que fustigaba el ambiente en procura de un destino cabal para la investigación científica. Su visión universitaria no podía tolerar que los estudiosos chilenos quedaran marginados de esta fascinante ascensión de la ciencia, y su misión de maestro le señalaba que era imperativo en la Universidad fomentar al más alto nivel la investigación en todas las áreas de las ciencias. Pero la mayor atracción de sus argumentos no estaba en la convicción que la ciencia confiere poder en el más alto sentido; sino que nos mostraba, con su ejemplo, que la búsqueda científica es para el espíritu un camino de selección, que puede culminar en realizaciones tan sublimes como las más excelsas creaciones del arte. En todos los ámbitos que le fue posible hizo escuchar su opinión —que entonces a muchos pareció audaz y desorbitada— que sin un auténtico desarrollo científico un país no podría alcanzar una plena evolución, no sólo de sus potencialidades naturales, sino de las económicas y sociales. Un colonialismo de las ideas, la necesidad de importar tecnólogos y tecnologías, hace a los pueblos inevitablemente dependientes de otras naciones que han llegado a ser grandes por su autocapacidad creadora. He visto, en el curso de los años, materializarse muchas de sus aspiraciones. Su prédica y ejemplo por la dignificación de las ciencias contribuyó a abonar el ambiente y no dudo que por muchos caminos facilitó la surgencia a

la vida nacional de esta Academia. No puedo menos en estas circunstancias, que sentirme reconfortado y orgulloso de compartir vuestras tareas.

Permitidme ahora que hable de algunos aspectos de la investigación realizada en torno a las funciones de un órgano fascinante, en la que he estado comprometido por más de 30 años. Si he traído este tema es porque para mí ha sido objeto de incisiva preocupación y un ejemplo de que un extraordinario vigor alienta la investigación fisiológica a nivel de organismos. El espectacular despliegue y trascendencia de la investigación biológica en el campo molecular, subcelular, pareciera dejar como subalternos todos los estudios que se realizan en los complejos conjuntos, como son los organismos. La llamada tendencia reduccionista, que domina la biología de hoy, se alimenta del aforismo de que si conocemos a fondo lo que ocurre en las estructuras vivas, a nivel molecular, todo lo que sucede a niveles más altos de la organización biológica quedará de por sí explicado. Sin embargo, seguirá siendo el nivel organismo con todo su complejo de partes, es decir, el individuo, la inagotable fuente de las más candentes interrogantes. Son muchos los que reclaman que es necesario buscar una expresión composicionista, contrapuesta a la reduccionista, que nos permita entender cómo puede realizarse la maravillosa síntesis y unidad del conjunto y nos explique los móviles que llevan a los seres a actuar como tales. La penetrante avanzada analítica de la biología molecular, gracias a la bioquímica ha destacado la profunda unidad de los procesos que sostienen la vida. Esta unidad química esencial contrasta con la enorme diversidad de formas, de comportamientos y reacciones de los seres. Para el fisiólogo, en cada ser el conjunto no ignora sus partes, y cada parte, aún la más ínfima, tiene una representación del conjunto. La Fisiología así será siempre una gran apertura a la totalidad orgánica; será la gran preocupada de la multiversidad. A pesar de ser fundamental, no es la ocasión para alargarme en estas disquisiciones y sólo debo limitarme a señalar que el caso del riñón, como muchísimos otros ejemplos, probaría que la simple búsqueda en el plano molecular no habría permitido encontrar ciertas relaciones de la más alta jerarquía en la regulación animal. Lo que sucede en ciertas células no podría ser explicado sin entender lo que ocurre a mucha distancia en otras células. La función más específica

del riñón, la de excretar orina, no es incumbencia del riñón exclusivamente: es tarea de todo el organismo. Pero lo extraordinario es que el riñón no sólo está para formar la orina; es un importantísimo órgano endocrino que, entre otras funciones, tiene una influencia decisiva en la hemodinámica, particularmente en el mantenimiento del nivel de las presiones sanguíneas.

La existencia de una íntima relación entre la presión sanguínea y el funcionamiento del riñón era conocida hace más de un siglo (Ludwig, 1844). Este concepto se perfeccionó con A. Cushny (1917), A. Richards (1925) y muchos otros. De hecho, la presión sanguínea desempeña un papel decisivo en la formación del filtrado glomerular, y a su vez el nefrón, a través de la reabsorción de agua y sales, mantiene el volumen del fluido intravascular. Existe una perfecta integración funcional entre la función excretora renal y la conservación del volumen sanguíneo que llena los vasos. Pero la participación del riñón en la homeostasis va más allá de una regulación del volumen del contenido vascular. Desde 1934 sabemos que puede afectar la capacidad del continente, las paredes de los vasos. Ese año, Harry Goldblatt demostró un hecho que impresionó fuertemente a los fisiólogos: bastaba estrechar el lumen de la arteria renal para que el riñón liberara a la sangre una substancia con caracteres extraordinarios, capaz de provocar un aumento sostenido de la presión, es decir, una hipertensión arterial. Quizás si la imagen de una maravillosa estructura destinada a formar la orina hizo olvidar que este órgano pudiera entregar al medio interno una substancia que operaba sobre la presión sanguínea, produciendo la vasoconstricción de las pequeñas arterias, a pesar que ya Tigersted y Bergman (1898) habían descrito que el extracto de riñón contenía una substancia indializable que llamaron renina.

Dos hechos dieron gran relieve al experimento de Goldblatt. Primero, que el estrechamiento de la arteria renal, mediante una pinza dejada indefinidamente, desencadena una hipertensión arterial permanente. La evolución de este trastorno en el perro y las alteraciones funcionales y anatómo-patológicas son similares a los típicos signos de la hipertensión arterial en el hombre. El segundo hecho fue la demostración de que desde un punto de vista hemodinámico, la hipertensión se debe a un incremento de la resistencia periférica por vasoconstricción arteriolar. Era lícito conjeturar que en ambos casos, el perro con

riñón isquémico y el hombre hipertenso, un mismo mecanismo podía ser responsable de la hipertensión.

Muchos de vosotros sabéis del avance extraordinario alcanzado en la explicación del mecanismo que desencadena y mantiene la hipertensión gracias a los grupos de investigadores encabezados por B. Houssay y por E. Page, quienes lograron de un modo definitivo demostrar que la vasoconstricción no era debida a una acción directa de la renina que el riñón entrega, sino que era la respuesta a una substancia de potente acción constrictora de la musculatura de los vasos y que la renina liberaba de una globulina α -2 del plasma. La substancia vasoactiva, es la hoy tan conocida angiotensina (hipertensina). La secreción de un fermento, la renina, que opera sobre un substrato circulante y libera un principio activo, era única en su género. La renina se comportaba como un fermento proteolítico y el producto final resultante aparecía como un péptido. Había así muchas razones para sentirse atraído por el estudio de este singular proceso humoral que aparecía como el mecanismo directamente responsable de la hipertensión arterial en el hombre. No es necesario representar el enorme interés práctico por conocer el mecanismo etiopatogénico de una alteración morbosa que directa o indirectamente ha pasado a ser la causa más importante de mortalidad para la humanidad.

Hacia 1940 se habían hecho substanciales avances en pro del esclarecimiento de las propiedades farmacológicas de la angiotensina, pero quedaban en pie muchas interrogantes acerca de su estructura, que esperaban solución y que seguíamos en nuestro Laboratorio con el más vivo interés.

DESCUBRIMIENTO DE LA PEPSITENSINA

En esa época mi hermano Raúl me propuso que estudiáramos la reacción renina-angiotensinógeno. El había ideado y perfeccionado un sistema biológico simple, pero extraordinariamente sensible: la perfusión del tren posterior del anfibio *Calitrocephalella gayii* que permitía descubrir cantidades ínfimas de angiotensina y que era completamente insensible tanto al angiotensinógeno como a la renina aplicados aisladamente. Cuando ambos se mezclan, aún por breves segundos, aparece una potentísima substancia vasoconstrictora. La velocidad de formación no era influida por la presencia de oxígeno. La ebullición de la mezcla de renina

y del sustrato, en medio ácido, después de una breve incubación, dejaba intacta a la sustancia vasoactiva, lo que se ajustaba a la concepción de que el proceso correspondía a una reacción proteolítica. La renina era un fermento muy singular, capaz de actuar sobre un sustrato muy específico. A pesar que se habían publicado resultados negativos, resolvimos analizar si se podría obtener una sustancia similar a partir del angiotensinógeno, empleando fermentos proteolíticos purificados. Tal tentativa se demostró altamente fecunda. No sin sorpresa pudimos observar que mezclando el angiotensinógeno con pepsina, en pH ácido, con gran rapidez aparece una sustancia vasoconstrictora, aparentemente tan activa como la angiotensina (Fig. 1). Sin embargo, como no fue posible establecer su identidad química, y no obstante la similitud de numerosas propiedades con el producto liberado por la renina, convinimos con Raúl en designarla *pepsitensina*. Este hallazgo nos dejó aún más claro que la renina era una enzima proteolítica y que la angiotensina era una molécula peptídica.

notar más adelante, la pepsina, a diferencia de la renina, puede también liberar sustancias vasoactivas cuando actúa sobre sustratos muy diferentes, como la globulina α -2, la seralbúmina y aún más disímiles, como la caseína. Por hidrólisis con pepsina se pueden obtener sustancias de propiedades vasoconstrictoras similares a la pepsitensina, aunque mucho menos potentes.

Nos intrigó de un modo inesperado encontrar que de diversos sustratos proteicos pudieran engendrarse sustancias de efectos biológicos tan intensos. Creo que el descubrimiento de la pepsitensina constituyó uno de los primeros atisbos para suponer que estructuras peptídicas formadas en el medio natural tuviesen una amplia participación en la homeostasis o en farmacología. Además se evidenciaba que el plasma sanguíneo, tan rico en variadas proteínas, podría contener muchos precursores hasta entonces insospechados. Estas reflexiones nos indujeron a estudiar más a fondo los efectos de la hidrólisis péptica de sustratos sanguíneos.

DESCUBRIMIENTO DE PEPSITOCINA Y PEPSANURINA

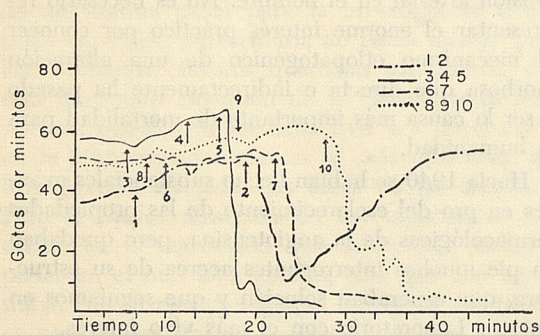


Fig. 1. Efectos vasoconstrictores en el tren posterior profundido de la C. Gayi. Abscisa, tiempo en minutos; ordenadas, número de gotas. Las flechas indican la inyección de diversas soluciones: 1. Solución de caseína 3% por min. a pH 5,5 (no se produce efecto vasoconstrictor); 2. La misma solución incubada con pepsina (efecto vasoconstrictor); 3. Angiotensinógeno con HCl; 4. Solución de pepsina; 5. Angiotensinógeno más pepsina (pH 4,5) (intensa acción vasoconstrictora); 6. Solución de pepsina más HCl (pH 5,5) (sin acción); 7. Angiotensinógeno más pepsina pH 6 (intensa vasoconstricción); 8. Gelatina 5% incubada con pepsina; 9. Igual a 8, doble cantidad (sin efecto); 10. Angiotensinógeno incubado con renina (pronunciada acción).

Según H. Croxatto y R. Croxatto. Science 95: 101, 1942.

La identidad entre la pepsitensina y la angiotensina aparecía como absoluta cuando se utilizaba al angiotensinógeno puro, obtenido de plasma bovino como sustrato; pero como lo hiciéramos

En esta línea de trabajos, en colaboración con L. Barnafi, pudimos demostrar que una digestión péptica prolongada de la fracción globulínica del plasma, da lugar, al lado de la pepsitensina, a otros péptidos fácilmente dializables, que ofrecen potentes acciones farmacológicas: uno de intensa acción antidiurética pero casi sin efecto hipertensor, que individualizamos como *pepsanurina* (Fig. 2) y otro también carente de propiedades vasoconstrictoras, pero de intenso efecto ocitócico, para el cual acuñamos el nombre de *pepsitocina*. Curiosamente estos péptidos, muy distintos químicamente de las hormonas neurohipofisarias, comparten las propiedades más específicas de la vasopresina y oxitocina. El estudio de la pepsanurina y pepsitocina no se ha terminado, ni conocemos aún todas sus implicaciones farmacológicas. Otros han continuado su estudio y así Werle (1966) ha podido adelantar que la pepsitocina es un péptido del tipo de una plasmacina (plasmakinine) de la cual por ulterior hidrólisis puede liberar una cinina (kinine) que no sería otra que la calidina (kalidine).

Las investigaciones que realizamos en la década 1940-1950 en este campo, estudiando la liberación de las sustancias peptídicas, afirmaron el concepto de que el plasma sanguíneo es una

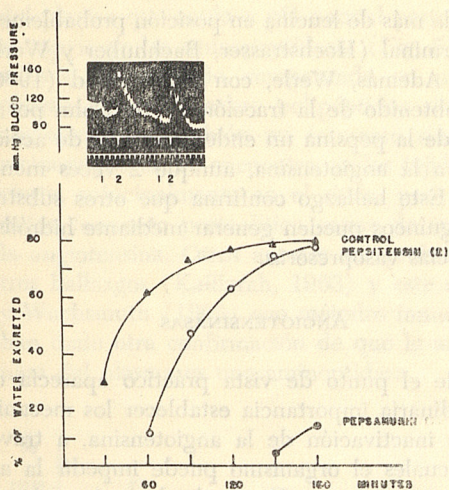


Fig. 2. Efecto de pepsanurina y de pepsitensina, obtenidas de un mismo volumen de angiotensínogeno de caballo, sobre la presión sanguínea y la diuresis en ratas. En la parte superior se indica en 1, la inyección de pepsanurina, y en 2, la de pepsitensina y sus respectivos efectos en la presión sanguínea. En la parte inferior, las tres curvas indican la excreción urinaria de agua de tres grupos de ratas: el tístico con solución salina; el grupo que recibió pepsitensina intraperitonealmente, y un último grupo, que recibió pepsanurina por la misma vía. Antes de inyectar estos tres grupos, las ratas fueron hiperhidratadas suministrando por vía gástrica 5% del peso corporal de agua.

Según H. Croxatto, en *Polypeptides which stimulate plain-muscle*, Ed. J. H. Gaddum, Editor, 1955.

fueron potenciales muy ricos en principios capaces de alterar el tono arteriolar.

Tal suposición demostró al poco tiempo su validez, al descubrirse que por mecanismo semejante, con veneno de serpiente o bien tripsina, se produce en el plasma la más potente substancia vasodilatadora hasta ahora conocida: la bradícina (Rocha - Silva, 1949).

EXPLORACION DE LA ESTRUCTURA PEPTIDICA UTILIZANDO ENZIMAS

No cabía duda que químicamente la angiotensina era un péptido. La mayor parte de los esfuerzos de muchos investigadores así como de los nuestros, estuvieron dirigidos a dilucidar la estructura de la substancia vasoconstrictora culpable. Limitaciones técnicas y la imposibilidad de disponer de cantidades suficientes de substrato nos obligaron a explorar el problema en forma indirecta. Una de éstas, que se demostró muy valiosa, apenas aprovechada en esa época, consistía en estudiar la vulnerabilidad de la molécula peptídica

frente a enzimas proteolíticas puras. Se había adelantado, gracias a los trabajos de M. Bergmann (1942), que la reacción entre el substrato y la enzima proteolítica depende, entre otros factores, de la presencia de ciertos aminoácidos cercanos a la unión peptídica donde se produce la ruptura. La hidrólisis, y por lo tanto la pérdida de la actividad de la angiotensina frente a una enzima, estaría denunciando la existencia de un determinado aminoácido en su cadena. Así, los resultados fueron claros, tanto la angiotensina como la pepsitensina ofrecían la misma labilidad frente a las enzimas proteolíticas, incluso ambas se destruyen con la pepsina. La extrema sensibilidad frente a la aminopeptidasa —que aislamos y purificamos de levadura de cerveza— y a la carboxipeptidasa del páncreas, nos permitieron adelantar que en la cadena de ambas moléculas existían los grupos NH_2 y COOH terminales (Fig. 3).

Nuestros experimentos nos mostraron que las enzimas ensayadas, exo y endopeptidasas sin excepción, inactivan a esas substancias. La destrucción por pepsina permitía presumir que la fenilalanina o la tirosina eran aminoácidos constituyentes. La destrucción por la tripsina apuntaba hacia la existencia de arginina o lisina en sus estructuras.

Por un camino parecido, pero usando un fermento con capacidad oxidativa, la tirosinasa, para convertir en quetona la función fenólica de la tirosina, pretendimos dar, de un modo indirecto, la prueba de que la tirosina no sólo estaba presente en la molécula, sino que, además de que la

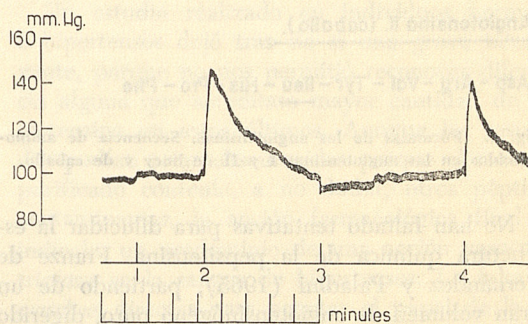


Fig. 3. Efecto de inyecciones de angiotensina (2) y de pepsitensina (4) sobre la presión arterial de un gato. En 1 y 3 se inyectan las mismas dosis, respectivamente, de angiotensina y pepsitensina, incubadas por 3 horas con aminopeptidasa extraída de levadura.

Según H. Croxatto, R. Croxatto, H. Manríquez y B. Valenzuela. *Rev. Med. y Aliment.* 1: 137, 1942.

integridad de la función fenólica sería esencial para ejercer su acción farmacológica, como ocurre con las conocidas catecolaminas. La tirosinasa, extraída del hongo *Psalliota campestris*, mostró que en presencia de oxígeno destruye totalmente la actividad de ambas sustancias vasoconstrictoras. Como este efecto puede ser bloqueado con inhibidores de la tirosinasa, pudimos adelantar que la acción farmacológica era debida a un grupo fenólico que no podía ser otro que el del aminoácido tirosina. Por otro camino, Cruz Coke y Plaza de los Reyes (1941), llegaron a concluir que la integridad de la tirosina era algo indispensable en la actividad biológica de la angiotensina. Este hecho fue definitivamente resuelto más adelante, cuando se logró descubrir la exacta composición y secuencia de aminoácidos de la angiotensina (Fig. 4). La obtención de un análogo por vía de la síntesis (Schwyzer, 1960) 18 años después, confirmó que se produce una considerable caída de la actividad por el solo hecho de substituir la tirosina por fenilalanina.

Angiotensina I. (buey).

Asp - Arg - Val - Tyr - Val - His - Pro - Phe - His - Leu

Angiotensina II. (buey).

Asp - Arg - Val - Tyr - Val - His - Pro - Phe

Angiotensina I. (caballo).

Asp - Arg - Val - Tyr - Ileu - His - Pro - Phe - His - Leu

Angiotensina II. (caballo).

Asp - Arg - Val - Tyr - Ileu - His - Pro - Phe

Fig. 4. Fórmulas de las angiotensinas. Secuencia de aminoácidos en las angiotensinas I y II de buey y de caballo.

No han faltado tentativas para dilucidar la estructura química de la pepsitensina. Franze de Fernández y Paladini (1965), partiendo de un gran volumen de angiotensinógeno puro, digerido con pepsina, lograron obtener la estructura de la pepsitensina, la que se demostró idéntica a la angiotensina II. Sin embargo, esta conclusión acaba de ser objetada y de un hidrolizado péptico similar a pH 3, se obtuvo un péptido con los mismos aminoácidos que la angiotensina I, exceptuando I

molécula más de leucina en posición probablemente C-terminal (Hochstrasser, Bachhuber y Werle, 1969). Además, Werle, con anterioridad (1966) había obtenido de la fracción IV de Cohn por la acción de la pepsina un endecapéptido, de acción similar a la angiotensina, aunque 2 veces menos activo. Este hallazgo confirma que otros substratos sanguíneos pueden generar mediante hidrólisis sustancias vasopresoras.

ANGIOTENSINASAS

Desde el punto de vista práctico aparecía de extraordinaria importancia establecer los mecanismos de inactivación de la angiotensina, a través de los cuales el organismo puede impedir la acción vasoconstrictora. Era un hecho universalmente aceptado que la sangre y los tejidos poseen fermentos inactivadores, las angiotensinasas (hipertensinasas). Se planteaba la posibilidad de que en los hipertensos existiera un déficit en la capacidad de destruir al agente vasoconstrictor. En vista de la gran riqueza en angiotensinasa que ofrece al riñón y de la comprometida situación de este órgano en el mantenimiento de la hipertensión, se pensó que el riñón tuviera un papel decisivo en la regulación del nivel de la angiotensina circulante y que una deficiencia en la capacidad de inactivarla explicaba el mantenimiento de una presión elevada. Esto nos llevó a precisar este papel "antihipertensivo" del riñón. Ideamos diversos experimentos que permitían hacer una brusca exclusión de los riñones sin provocar traumatismo operatorio mientras se infundía lentamente renina o angiotensina en gatos, hasta obtener un nivel hipertensivo estable. Se hacía súbitamente una ligadura del pedículo vascular del riñón, interrumpiendo su circulación y se observaba el curso de la presión sanguínea. Los hilos que se utilizaban para la ligadura eran colocados en el sitio adecuado, varios días antes del experimento. La supresión del territorio vascular de ambos riñones no modificó la presión que se mantuvo en el mismo nivel que existía antes de la ligadura; en otros términos, no se registró una tendencia a una mayor elevación de la tensión sanguínea.

Estos resultados y otras consideraciones nos impulsaron a investigar más a fondo los mecanismos enzimáticos del plasma sanguíneo que inactivan a la angiotensina.

La etapa más fructuosa de esta línea de trabajos fue lograda en 1943, cuando con Raúl Croxatto, pudimos dar la prueba de que la angiotensinasa

del plasma que actúa a pH normal pertenece a la categoría de las aminopeptidasas (Fig. 5). Tal resultado fue logrado comparando en un mismo plasma la acción sobre polipéptidos sintéticos y angiotensina. También un fermento similar a la aminopeptidasa se encuentra en los tejidos, y por cierto, principalmente en el riñón, pero no es el único fermento proteolítico capaz de inactivar a la angiotensina. Otros autores comprobaron nuestros hallazgos (Kaillarah, 1963) y este año Kurb y Wachsmuth (1969) con métodos inmunológicos han dado otra confirmación de que la angiotensinasa del plasma es una aminopeptidasa.

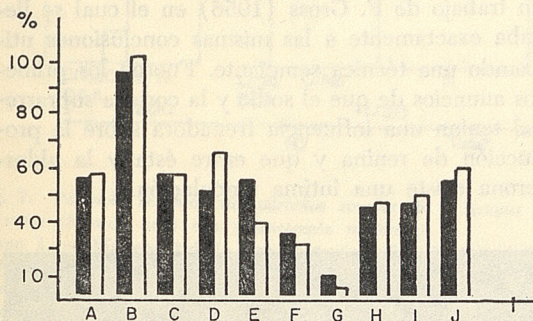


Fig. 5. Estudio de la actividad angiotensinásica y aminopeptidásica de plasmas sanguíneos de diversas especies animales y fracciones de plasma. Se utilizó como sustrato angiotensina y leucilglicina. Cada columna representa el valor promedio de tres distintas muestras. El porcentaje de inactivación de angiotensinasa se representa en las columnas negras, y del sustrato de la aminopeptidásica en las blancas. A, plasma humano; B, plasma de gato (filtrado en Seitz); C, plasma de caballo; D, plasma de gato (no filtrado); E, suero de buey; F, plasma de buey; G, plasma de buey; H, suero de buey; I, fracción albúmina de suero de buey; J, fracción globulina de suero de buey.

Según R. Croxatto y H. Croxatto. Proc. Soc. exptl. Biol. Med. 61: 330, 1946.

DUDAS SOBRE LA HIPOTESIS RENINA-ANGIOTENSINA

El descubrimiento de las fórmulas de las angiotensinas (Peart, 1956) el papel de la enzima convertidora (Skeggs) y otros hechos que dieron mayor precisión al esquema humoral de la renina, constituyeron la culminación de las metas más afanosamente buscadas. Pero estas hermosas conquistas, lejos de contribuir a consolidar el concepto de que el esquema humoral de la renina era responsable de la hipertensión arterial, abrieron más bien el camino para el advenimiento de otros acontecimientos que arroja-

ron muchas dudas sobre el papel causal de la renina-angiotensina.

Pero la claridad meridiana que aportó el conocimiento de la estructura química de la angiotensina no reflejó mayor luz en lo que más importaba. ¿Estaba participando el esquema renina-angiotensina en la hipertensión? La única forma posible de contestar esta pregunta era dosificando directamente la renina o la angiotensina en la sangre de sujetos, tanto normales como hipertensos. Para todos los que se ocupaban de hipertensión éste era el experimento crucial para aceptar la validez de esta teoría humoral. La incorporación de Manuel de la Lastra a nuestro laboratorio en 1948 nos permitió abordar directamente el problema de dosificar la angiotensina. En vista de su rápida inactivación en la sangre, debíamos encontrar un sistema que paralizara en el plasma la acción destructora de la angiotensina. Utilizamos el frío y como dador de sangre a una yegua.

En los extractos de plasma no se pudo identificar angiotensina; pero por lo menos aparecieron efectos farmacológicos que debían encontrar su exacta interpretación más adelante. Como anotó De la Lastra, había una acción histamino-símil, pero no causada por la histamina, preludio de lo que debíamos saber más adelante, que la sangre al tomar contacto con superficies extrañas, activa otro sistema proteolítico de la sangre, el de la calicreina y libera péptidos de acción opuesta a la angiotensina, que pueden enmascarar su presencia. Un año después de estos experimentos Rocha e Silva describió la bradiceína, que era el péptido que dificultaba nuestros ensayos de identificación de la angiotensina.

Un estudio realizado en individuos normales e hipertensos dejó tras de sí una grave interrogante, porque no nos permitió reconocer diferencia alguna que acreditara mayor cantidad de angiotensina en estos últimos. Aunque los resultados podían estar oscurecidos porque el material purificado contenía, a no dudar, otros péptidos contaminantes, la acción farmacológica final no indicaba un predominio de una acción vasoconstrictora en la sangre de hipertensos. La falta de pruebas directas para aceptar el papel de la renina-angiotensina en la hipertensión —como lo admitía la concepción original de Goldblatt— y de otras razones, promovieron una intensa búsqueda en diversas direcciones, con la idea de encontrar algún otro mecanismo que, asociado o no a la renina, pudiera explicar el origen y la

mantención de la hipertensión. Esta inquietud se manifestó en todas partes. Menciono de paso las tentativas de buscar en el sistema simpático el factor determinante de la vasoconstricción. Pasó temporalmente la teoría neurogénica a ocupar un sitio prevalente. Se llegó a practicar en gran escala la extirpación de cadena simpática en enfermos, como tratamiento a la hipertensión. Esto no prosperó y contribuyó poco a aclarar el problema. En cambio otros avances habían de alcanzar una gravitación esencial.

HIPERTENSION CORTICOIDE

En el año 1949, especialmente por las investigaciones de Selye, irrumpió en escena la corteza suprarrenal con sus mineralocorticoides y con ello la exaltación del papel del sodio en la hipertensión. Habría mucho que decir sobre el particular, que polarizó la atención de los endocrinólogos y aceleró el advenimiento de descubrimientos fundamentales para la fisiología de las suprarrenales. Baste recordar el hecho de partida que animales sin previa isquemia renal bajo la administración de cloruro de sodio y DCA, cortisona, o bien de aldosterona, como se hizo más tarde, desarrollan una hipertensión arterial de curso grave y en muchos aspectos similar a la obtenida por isquemia renal. El método de producir en la rata esta hipertensión llamada corticoide, llegó a ser en nuestro laboratorio un experimento rutinario. Entre las muchas cosas que interesaba esclarecer estaban las relaciones que podían existir entre el esquema humoral renina-angiotensina y la producción de hipertensión por DCA. Así vimos que este esteroide agrava la hipertensión renal, que asociada al cloruro de sodio aumenta significativamente los efectos hipertensores de la renina, pero que en cambio no influía directamente en la reacción renina-angiotensinógeno. Paralelamente, con R. de la Parra, Ruth Vera y estudiantes de Educación Física, en una serie de trabajos encaminados a dosificar la renina en riñones de ratas con hipertensión corticoide, hicimos un hallazgo que hubimos de repetir muchas veces para convencernos por lo contradictorio frente a la concepción dominante. La administración de cloruro de sodio en la bebida, disminuye apreciablemente el contenido de renina del riñón y mucho más todavía si se acompaña con altas dosis de cortisona, asociación que promueve la total desaparición de la renina renal.

Como en estas ratas la presión sanguínea alcanza niveles considerables, llegamos, en forma inobjetable, a la conclusión que la hipertensión corticoide con grave compromiso renal podía coexistir con una total desaparición de la renina. La hormona córtico-adrenal asociada al sodio inhibía intensamente la elaboración de esta enzima en el riñón y por lo tanto era difícil aceptar que la renina fuera un factor desencadenante de la hipertensión. Estos trabajos que dieron lugar a dos tesis de grado y cuyos resultados fueron comunicados en el Congreso de Riberão Preto en 1956 no fueron nunca publicados (Figs. 6 y 7), pues cuando nuestro manuscrito estaba listo apareció un trabajo de F. Gross (1956) en el cual se llegaba exactamente a las mismas conclusiones utilizando una técnica semejante. Fueron los primeros anuncios de que el sodio y la corteza suprarrenal tenían una influencia frenadora sobre la producción de renina y que entre ésta y la aldosterona existe una íntima vinculación.

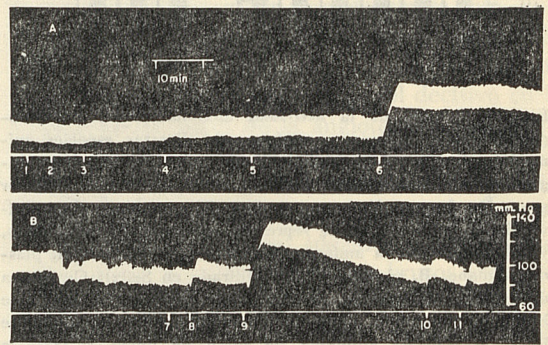


Fig. 6. Efectos de extractos de riñón sobre la presión arterial. Los extractos fueron preparados de riñones de 2 ratas con hipertensión provocada por la inyección de cortisona y NaCl en la bebida y de una rata testigo (que bebe agua) 60 días después de iniciado el tratamiento. En 1, 4, 7 y 10 se inyecta: 0,0001, 0,0002, 0,002 y 0,005 ml de un extracto de una rata con 150 mm de presión; en 2, 5, 8, 11, 0,0001, 0,0002, 0,002 y 0,005 ml del extracto renal de una rata con una presión de 170 mm Hg; en 3, 6 y 9, 0,0001, 0,0002 y 0,005 ml de un extracto de rata testigo. Según T. Blamey. Tesis. Universidad Católica, 1957.

ACCION DIURETICA DE LOS EXTRACTOS RENALES PURIFICADOS QUE CONTIENEN RENINA

La renina adquirió una nueva notoriedad al encontrar que nuestros preparados purificados de renina extraída de riñones de rata, poseen un efecto poliúrico extraordinario en la rata. (Fig. Nº 8). No conocíamos observaciones de que la

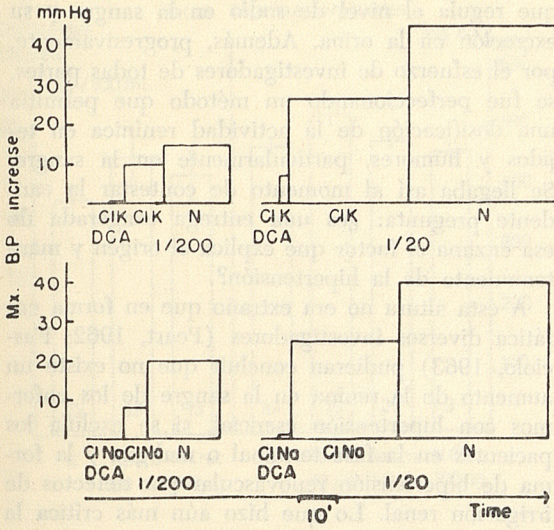


Fig. 7. Potencia renínica de extractos renales de 5 grupos de ratas (8 cada uno) con nefrectomía unilateral. Grupo 1, recibía una bebida que contenía 0,75% NaCl más 0,25% de KCl y DCA (cortexona). Grupo 2, idéntico al 1, pero sin DCA. Grupo 3, recibía como bebida NaCl al 1% y DCA. Grupo 4, idéntico al 3, sin DCA. Grupo 5, testigo que recibía agua.

La potencia renínica se estableció inyectando el extracto por vía intravenosa en ratas nefrectomizadas. El efecto se representa arbitrariamente, por el área en que uno de los lados corresponde al efecto presor máximo, en mm Hg. y el otro, a la duración del efecto en minutos. La cantidad de extracto inyectada corresponde a 1/20 y 1/200 del peso de cada riñón.

H. Croxatto. Hipertensión Arterial y Polipéptidos Vasoactivos. Conferencias Eduardo Braun Menéndez, 1961.

renina incrementa el volumen de agua excretada y el hecho nos intrigó considerablemente, porque los resultados parecían señalar que este fermento poseía una misión reguladora en el propio órgano que la elabora. Tanto más importante apareció esta función cuanto que al mismo tiempo la diuresis acuosa se acompaña de una gran eliminación de sodio y mucho menor de potasio. Este efecto natriurético puede superar varias veces al que producen las dosis óptimas de ocitocina. Aparecían así los preparados de renina como los agentes de origen animal más potentes, hasta ahora conocidos para favorecer la excreción de sodio, y el interés del hecho nos instigó a examinar más profundamente su acción y a proponer la idea que el papel principal de la renina parece residir en su intervención en el metabolismo del sodio. Diversos factores que estudiamos en el

curso de varios años con muchos colaboradores, entre los cuales estaba R. Rosas, en ese entonces estudiante de Medicina, nos mostraron que el efecto diurético y salurético está poderosamente influenciado por la presencia de hormonas corticoadrenales. En animales adrenalectomizados e hipofisectomizados, el fenómeno no se presenta. La cortisona (Fig. 9) y especialmente la desoxicorticoesterona y, lo que es más extraño, la propia aldosterona, intensifican los efectos típicos sobre la excreción de agua y electrólitos, como lo demostramos con E. Labarca. La renina y la ocitocina suman entre sí su acción diurética; en cambio la hormona de crecimiento, que estudiamos con G. Swaneck y E. Labarca más recientemente, contrarresta los efectos de la renina. Además, en 1965, pudimos comprobar con B. Zamorano que en ratas normales los preparados de renina producen una fuerte estimulación de la descarga de corticoides totales a la sangre (Figs. N.os 10 y 11), con lo que resalta aún más su compleja acción sobre los procesos que controla la suprarrenal. Aunque pudimos reproducir el efecto esencial sobre la diuresis con uno de los preparados purificados por el propio H. Gold-

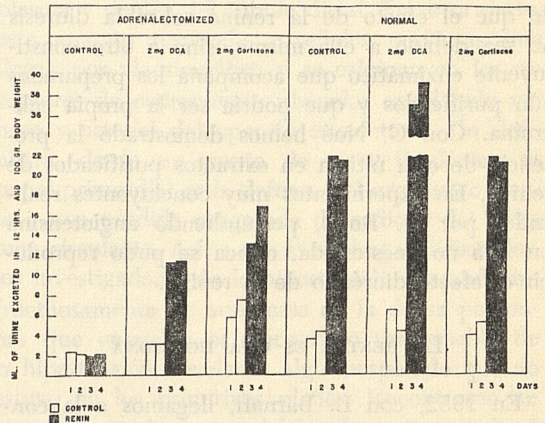


Fig. 8. Efecto diurético de 25 UG de renina administrada intraperitonealmente a grupos de ratas adrenalectomizadas y normales, divididas en subgrupos testigo; inyectado con 2 mg de DCA y subgrupos inyectados con 2 mg de cortisona diariamente. La altura de las barras muestra el volumen de orina excretada en 12 horas por cada subgrupo, referido a 100 g de peso corporal. El tiempo cero corresponde al instante en que se practica la inyección de renina. La inyección de renina se hace durante dos días seguidos después de haber controlado durante dos días la excreción de orina por los respectivos subgrupos.

Según H. Croxatto, L. Barnafi, L. Camazón y V. Parra. Endocrinología 54: 239, 1954.

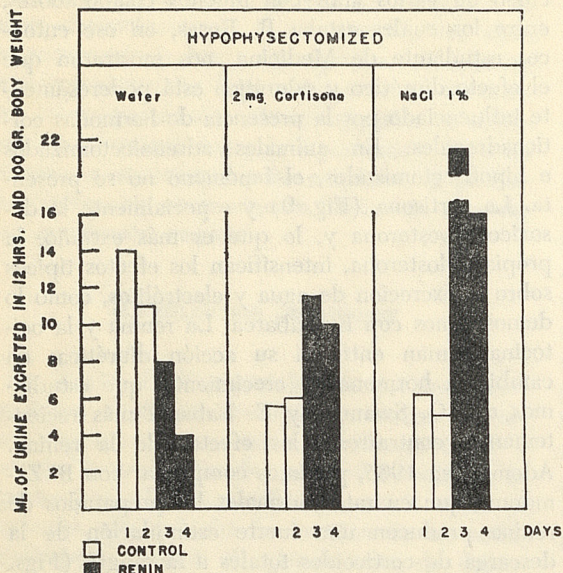


Fig. 9. Efecto diurético de 25 UG de renina administrada intraperitonealmente a ratas hipofisectomizadas, divididas en tres grupos: uno que bebe agua; otro que bebe agua y recibe diariamente 2 mg de cortisone, y otro que bebe una solución de NaCl al 1%. El resto de la descripción de este gráfico es igual a la Fig. 8.

blatt, todavía nos asiste la duda bien fundada de que el efecto de la renina sobre la diuresis no sea debido a ella misma, sino a otro constituyente enzimático que acompaña los preparados aún purificados y que podría ser la propia calcireína. Con G. Noé hemos demostrado la presencia de esta última en extractos purificados de renina. En experimentos muy concluyentes realizados por M. Rojas, perfundiendo angiotensina en rata no anestesiada, nunca se pudo reproducir el efecto diurético de la renina.

LA RENINA ES UNA HORMONA

En 1952, con L. Barnafi, llegamos a la conclusión, a base de los importantes efectos sobre la diuresis, que la renina, si bien es importante en la regulación de la presión arterial, no lo es menos en la regulación del metabolismo del sodio. Mientras tanto, más y más información se acumulaba sobre la renina. Se fue precisando por una parte el sitio exacto de su formación y liberación en el riñón, ubicándolo en el prodigioso complejo yuxtglomerular, cuyas células de la mácula densa y mioepiteliales de la pared de la arteriola aferente constituyen un finísimo órgano

que regula el nivel de sodio en la sangre y su excreción en la orina. Además, progresivamente, por el esfuerzo de investigadores de todas partes, se fue perfeccionando un método que permitía una dosificación de la actividad renínica en tejidos y humores, particularmente en la sangre. Se llegaba así al momento de contestar la candente pregunta: ¿es una entrega exagerada de esa enzima el factor que explica el origen y mantenimiento de la hipertensión?

A esta altura no era extraño que en forma enfática diversos investigadores (Peart, 1962; Fasciolo, 1963) pudieran concluir que no existe un aumento de la renina en la sangre de los enfermos con hipertensión esencial, si se excluía los pacientes en la fase terminal o maligna y la forma de hipertensión renovascular por defectos de irrigación renal. Lo que hizo aún más crítica la situación de la teoría humoral es que en los propios animales de experimentación con isquemia renal, los niveles sanguíneos de renina en la sangre de ratas (Blaquier, 1960) y conejos (Lever, 1963) y de angiotensina en perros (Scornik, 1963) eran prácticamente normales en la etapa de estabilización.

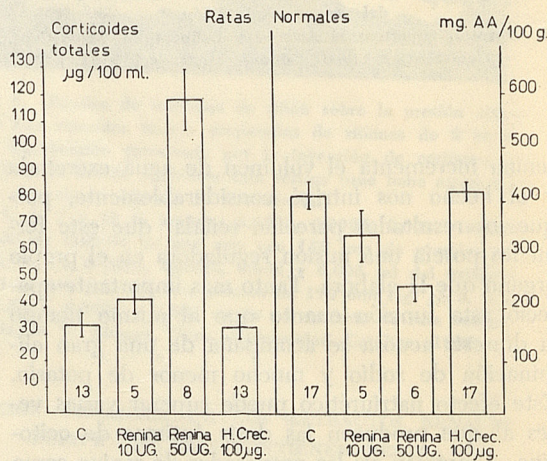


Fig. 10. Efecto de la inyección de renina de ratas y de hormonas de crecimiento sobre los corticoides totales del plasma ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$) y ácido ascórbico ($\text{mg}/100\text{ g}$) de la suprarrenal de ratas normales. Las cifras en el interior de las columnas indican el número de ratas. Los trazos verticales indican la desviación típica.

Según H. Croxatto y B. Zamorano. VIth Pan American Congress of Endocrinology, México, 1965.

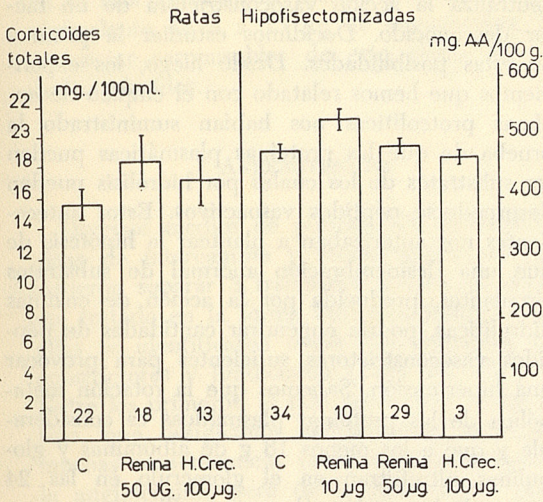


Fig. 11. Efecto de la inyección de renina de riñón de ratas y de hormona de crecimiento sobre los corticoides totales del plasma ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$) y ácido ascórbico ($\text{mg}/100\text{ g}$) de la suprarrenal de ratas hipofisectomizadas. Igual clave que Fig. 10.

Según H. Croxatto y B. Zamorano. VIth Pan American Congress of Endocrinology, México, 1965.

RENINA Y REGULACION DE LA ALDOSTERONA

El mecanismo humoral de la renina, perdió por un tiempo importancia: aparecía apenas como un proceso que tendría vigencia en limitadas condiciones experimentales; pero en 1960 Genest, en Canadá, y Laragh, en Estados Unidos, la llevaron de nuevo a una posición extraordinaria, como el factor fisiológico más importante —a través de la formación de angiotensina— en la regulación de la aldosterona que elabora la corteza suprarrenal. Se pudo, entonces, reconocer todo un sistema de servo-mecanismo que autorregula la producción de renina y de mineralocorticoides. La angiotensina formada estimula la producción y entrega de aldosterona; esta última, por la retención de sodio y cambios de la volemia que induce, frena la entrega de la renina. Esta enzima —y esta es tal vez la conclusión más importante alcanzada en los últimos tiempos— tiene todos los títulos para ser considerada como una auténtica hormona, de efecto crucial en las homeostasis del sodio. Si bien la corteza suprarrenal manifiesta una alta sensibilidad para responder descargando aldosterona ante el más leve incremento de angiotensina, esta última puede promover también una entrega mayor de gluco-

corticoides, como ya lo hemos mencionado (Fig. 11). Una hora después de la inyección de renina o angiotensina aparece una respuesta evidente que se traduce en una elevación de los 17 quetoesteroides en la sangre. Este fenómeno no se debe a una acción directa sobre la corteza suprarrenal, como ocurre con la aldosterona, puesto que no aparece si se bloquea el hipotálamo con morfina o se extirpa la hipófisis inmediatamente antes. Obviamente, participa también en esta respuesta la adrenocorticotrofina. La renina tiene, además, un papel intrarrenal, donde libera minúsculas cantidades de angiotensina en la inmediata vecindad del sitio en que se produce, es decir, sobre la pared de la arteriola aferente, controlando así la filtración glomerular de modo que se ajuste a la capacidad reabsorbidora de sodio del túbulo renal proximal. Los experimentos de micropunción del túbulo renal realizados por Thurau (1965) y su escuela parecen acercarse a una clarificación definitiva. En efecto, la concentración de sodio del fluido intratubular a nivel de la mácula densa es una señal efectiva que regula la entrega de renina por las células mioepiteliales que la fabrican. El órgano yuxtglomerular es un dispositivo altamente sensible a la concentración de sodio, que parece responder de acuerdo con la relación entre la concentración de Na en el plasma y dentro del túbulo distal. Por otra parte, este aparato responde a señales nerviosas que llegan por vía simpática y se originan en los receptores de estiramiento ubicados en el lado venoso y arterial del aparato circulatorio. En definitiva, desde un punto de vista fisiológico su papel primordial es la defensa del organismo frente a una pérdida exagerada de sodio y del volumen circulante. Así, a través de largas vicisitudes, los investigadores de la hipertensión, tratando infructuosamente de orientarse en la densa penumbra que envuelve el mecanismo responsable de la hipertensión, revelaron algo inesperado que no estuvo en los primitivos planes. Encontraron en la propia renina un eslabón de un mecanismo autorregulable, que parece operar en todos los vertebrados como uno de los procesos homeostáticos del sodio más fundamentales.

NIVELES DE RENINA EN LA HIPERTENSION ARTERIAL EN EL HOMBRE

¿Pero cuál es el papel de la renina en la patología de la hipertensión arterial? La situación

se ha complicado. Ya la renina no es únicamente un producto de elaboración renal. Un fermento similar se produce en la glándula submaxilar de la rata y en el mio y endometrio de varios animales, incluida la especie humana. Sin embargo, podemos decir que la posición de la renina en la hipertensión es la siguiente:

1º En un número apreciable de casos (5-10%) ocasionados por anomalías que estrechan el lumen de la arteria renal, se reproduce en el hombre un cuadro hipertensivo que es similar al que se obtiene en el animal en el cual se comprime la arteria renal y en el cual, al menos en la etapa inicial, existe una mayor entrega de renina a la sangre. La titulación de la renina en la sangre en la vena renal del lado afectado prueba que la entrega está apreciablemente aumentada, particularmente si se buscan las condiciones adecuadas (Hundt).

2º También puede atribuirse a un exceso de renina la presión elevada que se observa en la hipertensión maligna, porque en estos casos se encuentran constantemente niveles exagerados de renina en la sangre.

3º En la hipertensión arterial esencial benigna, la cantidad de renina circulante es normal (Skeggs). Quedan sin resolver aún las siguientes preguntas:

¿Cómo explicar en estos casos, que son la mayoría, el aumento de la resistencia periférica? ¿Qué agente la está provocando? ¿Significa todo esto que en la hipertensión esencial el riñón está exento de responsabilidad?

HIPERTENSION RENOPRIVA

Se había descrito la hipertensión llamada renopriva, que se provoca por la ablación total de los riñones. Esta hipertensión no se debe a la exclusión de la función excretora, porque si se dejan ambos riñones y se hace una anastomosis ureterocava, de modo que la orina producida entra a la circulación, la hipertensión no se desarrolla, aun cuando el animal hace el mismo cuadro de retención ureica que el perro nefrectomizado (Grollman, 1949). Esto demuestra que la presencia del parénquima normal previene el desarrollo de la hipertensión. Podría sugerirse que de algún modo el riñón evita la intervención de algún factor pro-hipertensivo destruyéndolo, impidiendo su formación o evitando su acción. Tampoco puede descartarse la posibilidad que el riñón produzca una substancia antagonica que

neutraliza la acción vasoconstrictora de un factor desconocido. Decidimos estudiar la primera de estas posibilidades. Desde luego, los experimentos que hemos relatado con el empleo de enzimas proteolíticas nos habían suministrado la prueba de que las proteínas plasmáticas pueden ser substratos de los cuales por hidrólisis pueden desprenderse péptidos vasoactivos. Estos antecedentes nos autorizaban a plantear la hipótesis de que una desmembración anormal de substratos circulantes, producida por la acción de enzimas hidrolíticas, podría engendrar cantidades de péptidos vasoconstrictores suficientes para provocar una hipertensión. Sabemos que la rotación metabólica de las proteínas plasmáticas es considerable y que a los menos 18 g de albúminas y globulinas ultrafiltran en el glomérulo en las 24 horas, de los cuales sólo pocos miligramos aparecen en la orina. Se ha demostrado en diversas especies que la concentración de proteínas en la sangre de la vena renal es 1 a 5% más baja que en la de la arteria renal (Sugarman, 1942). Por otra parte, Gerbi (1951) demostró el compromiso metabólico del riñón, al comprobar que en conejos con hipertensión nefrógica, no existen diferencias en la concentración de proteínas entre la sangre de la vena y arteria renales, como se observa en los testigos normales. De gran significación son también las observaciones que indican que el N aminoacídico y el N peptídico están más elevados en el plasma de la vena renal que en el de la sangre arterial. Eliasch (1955), Harms (1962) y Royce (1968), han contribuido a dar testimonio de una reabsorción y degradación de las proteínas a nivel del riñón.

Nuestros estudios previos realizados con Barnafi, utilizando plasma como substrato y pepsina como fermento, nos demostraron que si bien el plasma tiene una enorme potencialidad para engendrar péptidos vasoactivos, todos ellos pierden rápidamente sus propiedades farmacológicas, en presencia de enzimas que operan en el plasma a pH neutro. Decidimos explorar con Mellado y T. Pereda (1959) lo que ocurría en el plasma sometido a una simple incubación, en condiciones que anularan la acción de las enzimas inactivantes, lo que podíamos lograr modificando el pH. El resultado mostró que el plasma humano acidificado a pH 3,8 incubado a 38° C sin la adición de enzimas proteolíticas extrañas, acumula progresivamente substancias vasoconstrictoras. Una cantidad tan pequeña como de 0,1 ml de plasma incubado, inyectado por vía intravenosa

en la rata aumenta la presión arterial en forma equivalente de 5 a 15 μg de angiotensina. Las sustancias responsables de este efecto son, sin duda, péptidos.

ANEFROTENSINA

Diversos medios de purificación utilizando resinas de intercambio y cromatografía, nos permitieron separar 3 fracciones activas en el plasma tratado en la forma indicada. Posteriormente ellas se identificaron como dos principios vasoconstrictores y bradicinina (Figs. 12, 13 y 14). Entre los primeros, el más importante es un péptido, que designamos *anefrotensina*, que ofrece muchas características farmacológicas propias de la angiotensina, pero de la cual difiere por su efecto opuesto en el duodeno de la rata, mientras las angiotensinas lo contraen, la anefrotensina lo relaja (Fig. 15).

En este momento vale la pena señalar un hecho que resultó perturbador en el primer momento y complicó la interpretación de los resultados iniciales obtenidos con suero incubado a pH ácido. Nos dimos cuenta que la acidificación promueve también la activación de la cali-

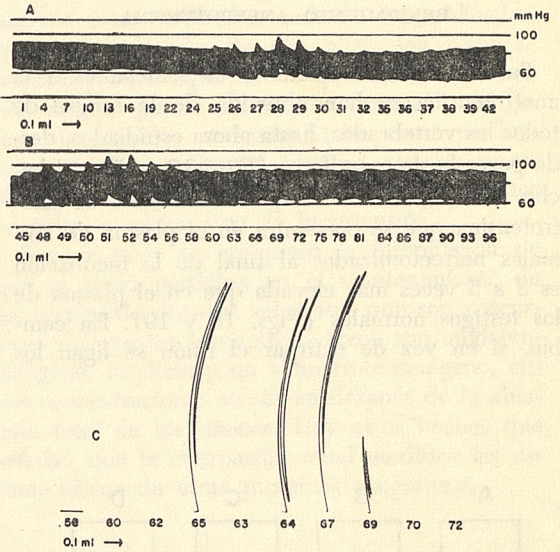


Fig. 13. Efecto de An1, An2 y AnB obtenidos por el proceso de purificación de la Fig. 12 sobre la presión sanguínea y sobre útero aislado de rata. Entre los tubos del colector de fracciones: 26 a 31 emerge An1; entre 45 y 56, emerge An2, la anefrotensina y entre 64 y 69, se obtiene la bradicinina, que se identifica por su efecto ocitócico. Según H. Croxatto, R. Vera, J. Roblero y J. Belmar. *Canad. Med. Ass. J.* 90: 313, 1964.

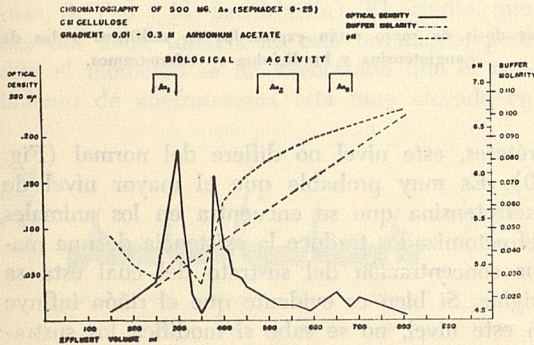


Fig. 12. Separación de anefrotensina de los otros componentes vasoactivos obtenidos por incubación del plasma a pH 2,8 durante 90 horas. En el gráfico se indica la densidad óptica, la molaridad y variación del pH en el líquido efluente de una columna de CM. celulosa, utilizando un gradiente osmolar (0,01-0,3 M) de acetato de amonio. El material (500 mg), antes de ser introducido en esta columna, había sido purificado en columna de Sephadex G_{25} . En la parte superior se indica el volumen del efluente donde aparecen: An1, anefrotensina (An2) y AnB, que corresponde a bradicinina.

Según H. Croxatto, R. Vera, J. Roblero y J. Belmar. *Canad. Med. Ass. J.* 90: 313, 1964.

creína, y que se produce una acumulación importante de bradicinina, cuya destrucción es inhibida por el ambiente ácido. Utilizando la rata nefrectomizada, en la que se induce una hipotensión por bloqueo del simpático o por otro mecanismo como reactivo biológico para la identificación de la sustancia vasoconstrictora, pudimos comprobar que si bien esta preparación es más sensible a la anefrotensina, y por cierto a la angiotensina, en ella la bradicinina ocasiona paradójicamente una respuesta hipertensora, en vez de hipotensora, o bien difásica con predominio hipertensor. Como es sabido, en la rata con presión normal o elevada, la bradicinina determina siempre una hipotensión manifiesta. Con Belmar (1962) pudimos describir por primera vez el efecto hipertensor de la bradicinina y contribuir a la explicación de este fenómeno paradójico. Por razones de tiempo no podemos describir aquí en detalle este mecanismo hipertensor, en el cual participa una descarga de catecolaminas con un aumento del gasto sistólico (R. Rosas).

EFFECTO DE LA NEFRECTOMIA SOBRE EL RENDIMIENTO ANEFROTENSINA

Sustancias con características semejantes a la anefrotensina se han obtenido de la sangre de todos los vertebrados, hasta ahora estudiados, desde peces hasta mamíferos (Figs. 16 y 17). El hecho más importante es que la cantidad de anefrotensina que se encuentra en el plasma de animales nefrectomizados al final de la incubación es 3 a 5 veces más elevada que en el plasma de los testigos normales (Figs. 18 y 19). En cambio, si en vez de extirpar el riñón se ligan los

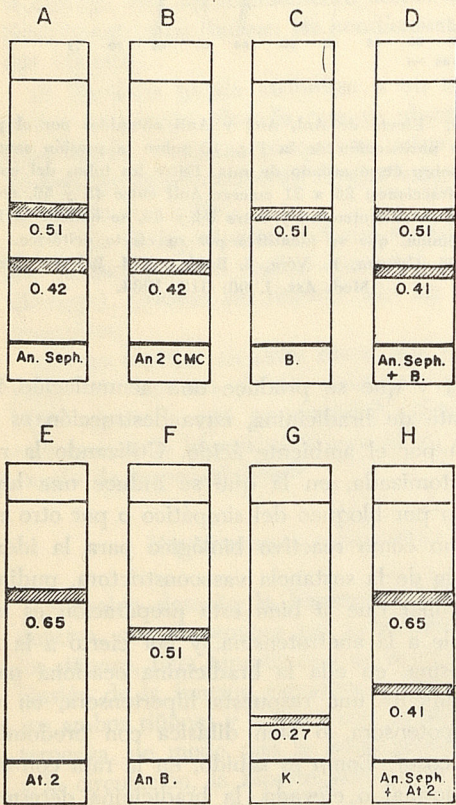


Fig. 14. Cromatografía sobre tiras de papel. Las zonas rayadas indican donde se encontró actividad biológica y la cifra es el RF correspondiente. En A se colocó anefrotensina recogida después de la filtración por Sephadex G50. En B, An2, obtenida después del paso por columna CMC. En C, bradicinina. En D, una mezcla de la anefrotensina usada en A y bradicinina. En E, angiotensina II. En F, AnB. En G, calidina y en H, anefrotensina usada en A más angiotensina II.

Según H. Croxatto. Ann. Ist. Sup. Sanità 2: 575, 1966.

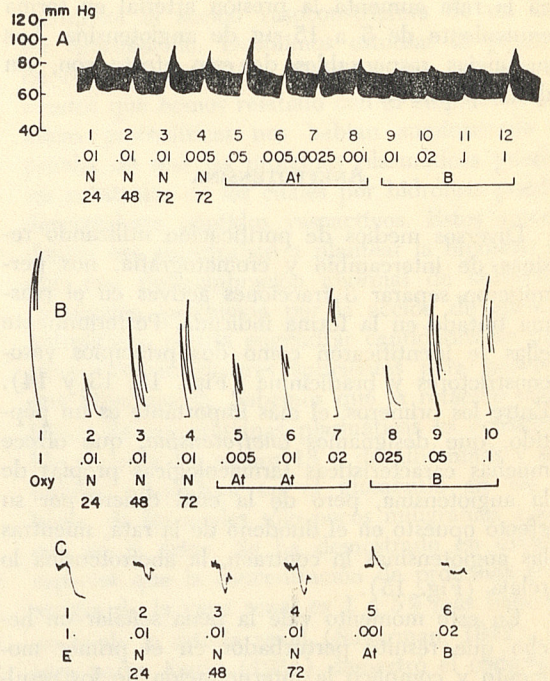


Fig. 15. Efectos de anefrotensina obtenidos del suero de perro nefrectomizado (N) incubado 24, 48 y 72 horas a pH 2,8. Los efectos se comparan con los de angiotensina (At) y bradicinina (B).

- A. Efecto vasopresor en rata nefrectomizada.
- B. Efecto en útero aislado de rata.
- C. Efecto sobre el duodeno aislado de rata.

Las dosis de suero están expresadas en mililitros y las de angiotensina y bradicinina en microgramos.

uréteres, este nivel no difiere del normal (Fig. 20). Es muy probable que el mayor nivel de anefrotensina que se encuentra en los animales nefrectomizados traduce la existencia de una mayor concentración del sustrato del cual ésta se origina. Si bien es evidente que el riñón influye en este nivel, no se sabe si modifica los sustratos o los sistemas enzimáticos, o ambos procesos a la vez. Se encuentran en desarrollo experimentos destinados a investigar si en ciertos tipos de hipertensión humana participan péptidos vasoconstrictores, no necesariamente liberados por renina. Estudios realizados en nuestro laboratorio por Rosas y otros colaboradores, han demostrado que la incubación ácida del plasma de ratas con hipertensión corticoide ocasiona un mayor aumento de sustancias vasoconstrictoras que de los controles que reciben sólo NaCl (Fig. 21).

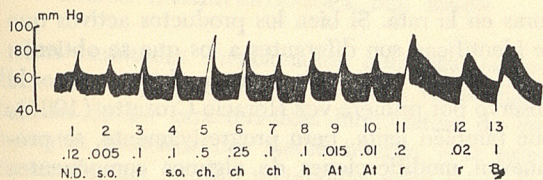


Fig. 16. Cambios en la presión arterial de una rata nefrectomizada, producidos con anefrotensina obtenida del suero de diferentes especies, angiotensina (At) y bradicinina (B). Las cantidades de anefrotensina se expresan en ml y corresponden al volumen de suero del cual fueron obtenidas. 1) 0,12 ml de anefrotensina de perro nefrectomizado; 2) 0,005 ml anefrotensina del teleosteo Sebastodes oculus; 3) 0,1 ml anefrotensina de Caliptocephalella gayi; 4) 0,1 ml anefrotensina de S. oculus; 5), 6) y 7) 0,5 ml, 0,25 ml y 0,1 ml anefrotensina de pollo; 8) 0,1 ml anefrotensina de caballo; 9) y 10) 0,015 µg y 0,1 µg angiotensina; 11) y 12) 0,2 ml y 0,02 ml anefrotensina de rata. 13) 1 µg bradicinina.

Según H. Croxatto, T. Pereda, J. Belmar y E. Labarca. Ann. N. Y. Acad. Sciences. 104: 146-160, 1963.

Ocurre como si en las ratas hipertensas existieran condiciones similares a la que ofrecen los animales nefrectomizados. Además señalaron el hecho importante que la anefrotensina produce un efecto hipertensor más intenso en las ratas tratadas con DOCA que en los respectivos testigos.

Por el momento existe una investigación en marcha para estudiar el rendimiento de anefrotensina en el plasma de pacientes hipertensos (R. Rosas, S. Vial y M. San Martín). El estudio, que lleva dos años, todavía no está terminado; pero hasta el momento se ha encontrado que el rendimiento de anefrotensina está muy elevado en

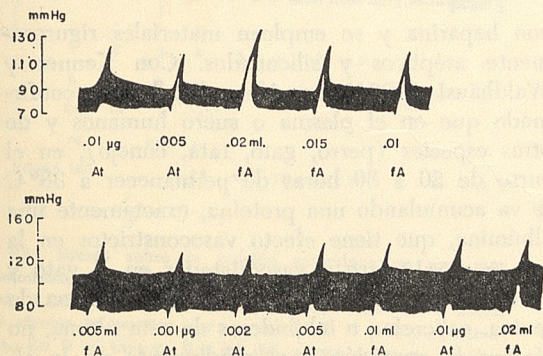


Fig. 17. Efecto de suero de rana (fA) incubado 24 horas a pH 2,8 sobre la presión sanguínea de rata nefrectomizada (parte superior) y rata normal (parte inferior). El efecto se compara con el de diversas dosis de angiotensina II (At). Según H. Croxatto y E. Labarca. Acta Physiol. Lat. Amer. 12: 251, 1962.

los hipertensos con respecto de los normales. Aunque estos resultados, todavía no publicados, apoyan la sospecha de una alteración como la prevista por la hipótesis de que en la hipertensión arterial podría existir una formación exagerada de péptidos vasoconstrictores como productos de la desmembración protéica, todavía se está lejos de demostrar la responsabilidad de estos péptidos en algún tipo de hipertensión.

Poco a poco se enriquece la información de que el riñón participa en el mantenimiento de los niveles de diversos substratos que son precursores de agentes vasoactivos, como son angiotensinógeno, bradicinógeno y anefrotensinógeno, cuyas concentraciones se elevan después de la ablación total de los riñones. Hay otros hechos que señalan que la extirpación renal modifica las características de otras proteínas sanguíneas.

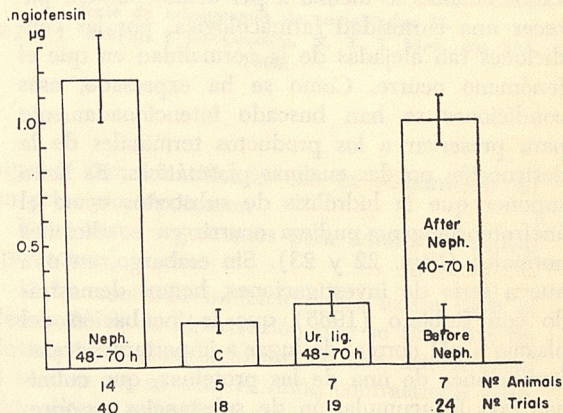


Fig. 18. Efecto vasopresor de la anefrotensina obtenida de 1 ml de suero de perro, en una rata nefrectomizada. La primera columna es el valor medio de muestras de anefrotensina obtenida de 14 perros, después de 47 a 70 horas de nefrectomía; la segunda corresponde a 5 perros normales; la tercera, a 7 perros después de 48 a 70 horas de la ligadura de los uréteres, y la cuarta, muestra los valores medios de efectos presores obtenidos de muestras de suero obtenidas antes y después de 40 a 70 horas de nefrectomía de 7 perros. Las ordenadas indican los efectos presores de anefrotensina obtenida de 10 ml de suero, expresada en dosis equivalentes a µg de valil-5-angiotensina II amida.

Según H. Croxatto, T. Pereda, J. Belmar y E. Labarca. Ann. N. York Acad. Sci. 104: 146-160, 1963.

FORMACION DE SUBSTANCIAS VASOACTIVAS POR INCUBACION DEL PLASMA A PH NORMAL

La formación de sustancias vasoactivas, sea del plasma de animales normales o nefrectomi-

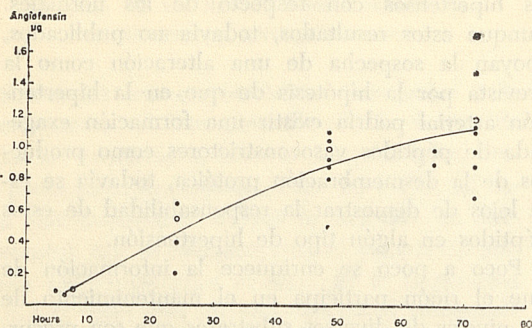


Fig. 19. Formación de anefrotensina en la sangre de perros nefrectomizados. Las muestras fueron tomadas de diversos perros (puntos negros) en las horas que se indican después de extirpar los riñones. Los círculos blancos corresponden a determinaciones realizadas en un mismo perro.

zados cuando se incubaba a pH ácido, pudiera parecer una curiosidad farmacológica, por las condiciones tan alejadas de la normalidad en que el fenómeno ocurre. Como se ha expresado, esas condiciones se han buscado intencionadamente para preservar a los productos terminales de la destrucción por las enzimas plasmáticas. Es lícito suponer que la hidrólisis de substratos como el anefrotensinógeno pudiera ocurrir en condiciones normales (Figs. 22 y 23). Sin embargo, en una nueva serie de investigaciones, hemos demostrado con Roblero (1965) que la incubación del plasma a pH normal da lugar a importantes transformaciones de una de las proteínas, que culminan con la acumulación de sustancias vasopre-

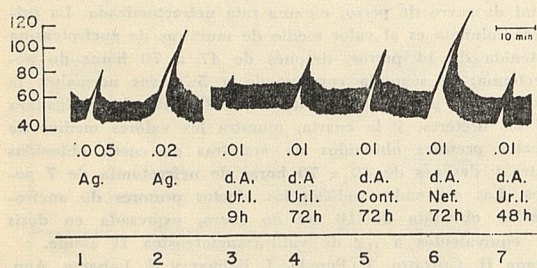


Fig. 20. Efecto presor en una rata nefrectomizada de anefrotensina de diferentes muestras de plasma sanguíneo de perro (d. A.), obtenidas de animales nefrectomizados (Nef.) testigos y perros cuyos uréteres fueron previamente ligados (Ur. I). Se indica en horas (h) el tiempo de incubación a 38°C de las distintas muestras inyectadas. Al comienzo de la curva se muestran efectos producidos por la inyección de angiotensina II (Ag.).

Según H. Croxatto *Perspectives in Biology*, Elsevier Publ. Co., 1962.

soras en la rata. Si bien los productos activos que se identifican son diferentes a los que se obtienen a pH ácido, no queda lugar a dudas, como lo observó por primera vez Horacio Croxatto (1961), que también lenta, pero progresivamente, se producen modificaciones de algunos componentes proteicos, lo que se expresa en un cambio de las propiedades farmacológicas que aparecen en el plasma incubado a pH normal. Las alteraciones se producen aun cuando se evite la coagulación

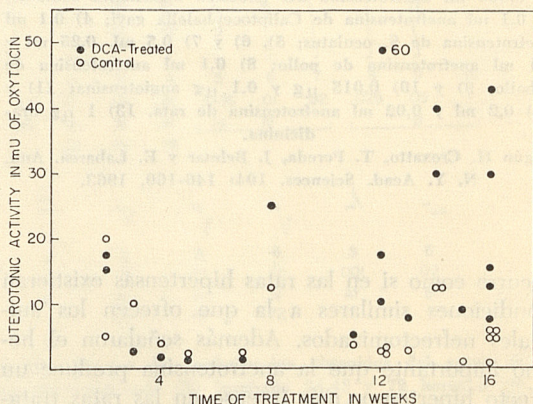


Fig. 21. Influencia del tiempo de tratamiento sobre la Anefrotensina obtenida de 1 ml de sangre de ratas normales y tratadas con Cortexona (DCA) y NaCl.

En la abscisa se indican las semanas que transcurren hasta el momento en que se hace la determinación. Sólo después de la octava semana la presión sanguínea empezó a subir en forma significativa.

Según R. Rosas y H. Croxatto. *Circulation Res.* 10: 880, 1962.

con heparina y se empleen materiales rigurosamente asépticos y siliconados. Con Kenner y Waldhäusl (1964) en Alemania, hemos confirmado que en el plasma o suero humanos y de otras especies (perro, gato, rata, conejo), en el curso de 20 a 80 horas de permanecer a 38°C se va acumulando una proteína, exactamente una albúmina, que tiene efecto vasoconstrictor en la rata y en el perro y vasodilatador en el gato y en el conejo (Fig. 24). La adición al plasma de renina, caliceína o inhibidores de esta última, no afectan la aparición y el rendimiento de la albúmina vasoactiva. Los primeros ensayos revelaron que en el rendimiento de esta albúmina inflúa el riñón, por cuanto el plasma de animales nefrectomizados proporciona un rendimiento inferior al de los testigos intactos.

ACCION ANTIHIPERTENSORA DEL RIÑON

Los resultados mencionados muestran la influencia compleja que tiene el riñon en la man-
 tencción de las características bioquímicas de los
 sustratos proteicos del medio interno y la exis-
 tencia de una función metabólica poco conocida.
 Pero aun cuando aceptemos que estos procesos
 forman parte de una función renal que influye
 en la presión sanguínea a través de la mantención
 en el plasma de las características bioquímicas
 de algunas de sus proteínas, es probable que no
 se agote con ello el papel del riñon como órgano
 implicado en la mantención de la presión sangü-
 nea, particularmente en su papel antihiper-
 tensor. A lo menos en parte, éste podría conce-
 birse como el resultado de alguna substancia va-
 sodilatadora que compensara constantemente el
 efecto de los principios vasoconstrictores, entre
 los cuales podrían figurar la propia angiotensina
 y otros péptidos, como anefrotensina. Diversos in-
 vestigadores han supuesto que el riñon posee un
 mecanismo antihipertensor desconocido todavía.
 Aparte de aceptar que el riñon pone en juego
 un mecanismo hipertensor, renina-angiotensina-
 aldosterona, dispondría además de una función
 antihipertensora. Se desconoce en qué proceso o
 substancia descansa esta capacidad del riñon, que

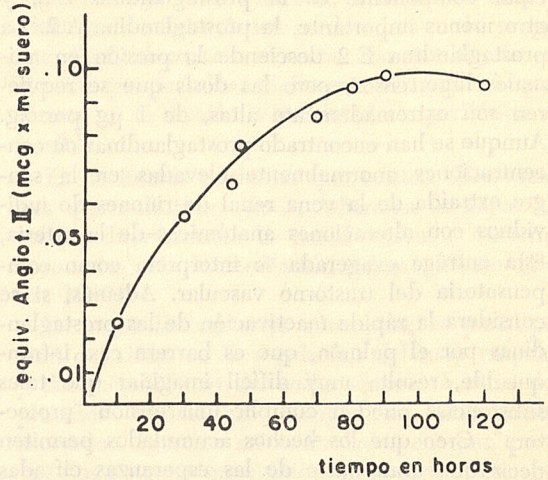


Fig. 23. Formación de la Substancia Vasoactiva en el plas-
 ma humano durante la incubación a pH neutro a 38° C. La
 actividad vasopresora está expresada en el efecto equiva-
 lente de microgramos de angiotensina II.
 Según J. Roblero y H. Croxatto. N. Y. J. Med. 68: 235,
 1968.

algunos han identificado con la elaboración de
 un principio hipotensor.

Entre otros argumentos para admitir la acción
 "protectora" se cita:

1º La conocida inhibición que existe para el
 desarrollo de la hipertensión que se pretende in-
 ducir por el estrechamiento de una arteria renal
 si se deja en su sitio el riñon contralateral sano.
 Este último impide de alguna manera que la hi-
 pertensión se establezca, pues ésta se desarrolla
 tan pronto como se extirpa el riñon sano.

2º El transplante de un riñon sano en animal
 hipertenso produce la normalización de la pre-
 sión.

3º El propio experimento de la hipertensión re-
 nopriva (Grollman, 1941) ya citado, señala, por
 otra parte, la importancia que tiene el hecho de
 que el parénquima normal o parte de él esté pre-
 sente para evitar la hipertensión.

¿Cuál sería la naturaleza del mecanismo "pro-
 tector"? Se ha buscado, desde hace años y con
 gran tenacidad, alguna substancia del riñon que
 tenga efecto opuesto a la angiotensina. Muirhead
 (1969) ha logrado separar una fracción que lla-
 mó "medulina", porque se obtiene de la parte
 medular, que está formada por lípidos vasode-
 presores. Las tentativas de purificación de este
 principio han permitido demostrar que su prin-

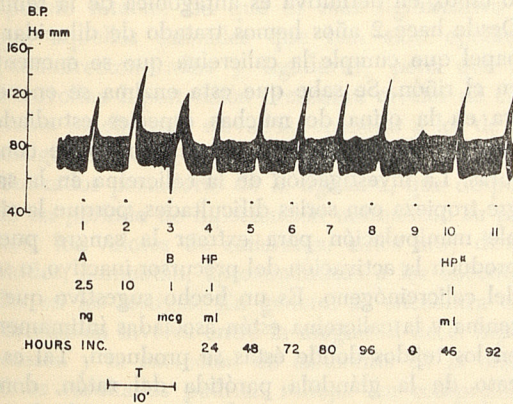


Fig. 22. Efecto sobre la presión sanguínea en una rata
 nefrectomizada, de 0,1 ml de un plasma humano (HP) in-
 cubado a pH neutro a 38° C por 24, 48, 72, 80 y 96 horas.
 Estos efectos se pueden ver en 4, 5, 6, 7 y 8 respectiva-
 mente. En 9 se inyecta 0,1 ml del mismo suero no incuba-
 do. Compárese la acción vasopresora con la producida por
 2,5 y 10 ng de angiotensina II (A) y de 1 µg de bradici-
 nina (B). En 10 y 11 se inyecta 0,1 ml de otro suero humano
 (HP x) incubado 46 y 92 horas.

Según H. Croxatto y G. Díaz. Proc. Soc. exptl. Biol. Med.
 130: 465, 1969.

cial componente es la prostaglandina E 2, y otro menos importante, la prostaglandina A 2. La prostaglandina E 2 desciende la presión en animales hipertensos; pero las dosis que se requieren son extremadamente altas, de 1 μg por kg. Aunque se han encontrado prostaglandinas en concentraciones anormalmente elevadas en la sangre extraída de la vena renal de riñones de individuos con alteraciones anatómicas de la arteria, esta entrega exagerada se interpreta como compensatoria del trastorno vascular. Además, si se considera la rápida inactivación de las prostaglandinas por el pulmón, que es barrera casi infranqueable, resulta muy difícil imaginar que tales substancias puedan cumplir una misión "protectora". Creo que los hechos acumulados permiten decir que gran parte de las esperanzas cifradas en las prostaglandinas como los agentes hipotensores del riñón, se han desvanecido.

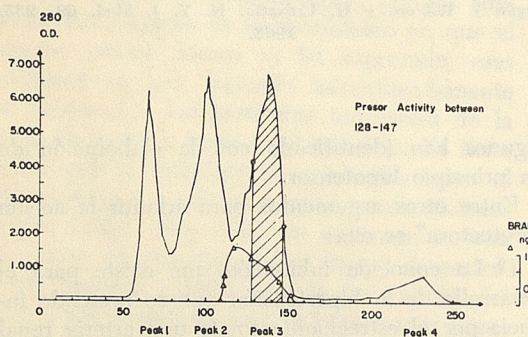


Fig. 24. Separación en Columna de Sephadex G 200, de la albúmina vasoactiva. La columna se cargó con 20 ml de plasma humano incubado 96 horas a pH neutro y 38° C. (La zona hachurada indica el volumen del efluente que contiene substancia vasopresora en la rata y que corresponde a la zona donde emerge la albúmina). En la ordenada de la derecha se indica en ng de bradicinina la presencia de bradicinógeno en volúmenes que van del tubo 110 al 250. La substancia vasopresora, por nueva filtración en Gel, puede ser separada del bradicinógeno.

Nuestros estudios tienden a explicar cómo se ha expresado que parte de la función "protectora" del riñón sano se ejercería a través de una función metabólica, que le permite controlar los niveles de ciertos substratos proteicos del plasma, potencialmente capaces de liberar péptidos vasoconstrictores. Obviamente, falta una demostración directa de cómo se llevaría a cabo tal acción bioquímica en riñón, tarea que está todavía en la etapa preliminar. Pero tal rol "protector" podría no ser el único.

RENINA VERSUS CALICREINA RENAL

Hay otros hechos sugestivos que nos han llevado a examinar la posibilidad de que los mecanismos pro y antihipertensores de este órgano sean ejercidos, en último término, por los dos sistemas enzimáticos que farmacológicamente resultan opuestos, como son el de la renina y el de la calicreína. Por otra parte, si se piensa que en general el nivel de secreción de renina está determinado por el sodio y que la enzima estimula el proceso que favorece la entrada en juego de la aldosterona, hormona que conserva el sodio para el organismo, es lícito especular que un factor renal que se opone a la acción hipertensora debiera ser algo que promueve un mecanismo contrario, la excreción de sodio por el riñón. Este factor no se conoce, aun cuando recientemente Dahl (1969) ha supuesto su existencia. Nos pareció lógico postular la hipótesis de trabajo que la calicreína renal pudiera llenar esta función.

Es un hecho confirmado (Webshter, 1964) que la inyección de bradicinina en la arteria renal, en dosis que no afecta a la presión arterial, produce una notable estimulación de la excreción de sodio. Este resultado permite suponer que la calicreína renal que puede producir un efecto local sobre el mecanismo transportador de sodio, tiene una connotación fisiológica que resulta contraria al efecto terminal de la aldosterona y, por lo tanto, en definitiva es antagónica de la renina. Desde hace 2 años hemos tratado de dilucidar el papel que cumple la calicreína que se encuentra en el riñón. Se sabe que esta enzima se encuentra en la orina de muchas especies estudiadas; pero su significación es todavía objeto de conjeturas. La investigación de la calicreína en la sangre tropieza con serias dificultades, porque la simple manipulación para extraer la sangre puede producir la activación del precursor inactivo, o sea, del calicreínógeno. Es un hecho sugestivo que la renina y la calicreína estén asociadas íntimamente en los tejidos donde éstas se producen. Tal es el caso de la glándula parótida del ratón, donde ambas se encuentran en los mismos gránulos de las células excretoras.

Como la medición de la concentración de calicreína en el tejido renal ofrece dificultades que no han sido superadas todavía, hemos medido la misma enzima en la orina de la rata y estudiado sus variaciones en diversas condiciones experimentales. La dosificación resulta relativamente sencilla, por su notable acción ocitócica directa

sobre el útero aislado de la misma especie animal y porque su efecto es proporcional a la dosis. Ratas normales y en condiciones de hidratación semejantes, eliminan calicreína en una proporción relativamente constante. El aumento del volumen de orina excretado reduce su concentración, lo que ocurre cuando se suministra NaCl en la bebida. La hipofisectomía disminuye de un modo notable y permanente su eliminación.

¿Pero qué ocurre cuando se desarrolla la hipertensión, utilizando una de las conocidas manipulaciones que producen alteración de la circulación intrarrenal?

No se conoce el origen de la calicreína urinaria, aun cuando se sabe que es distinta de las del plasma; pero era lícito suponer que si la calicreína urinaria reflejara la capacidad del riñón de producirla o activarla, quería decir que la manipulación renal que desencadena el desarrollo de la hipertensión debiera perturbar de alguna manera la producción o la activación de este fermento. Estudios realizados en ratas de dos razas diferentes, uninefrectomizadas y portadoras de una ligadura en el riñón restante, que desarrollan una hipertensión sostenida, muestran una notable disminución en la cantidad de calicreína excretada por la orina. Esta disminución es 10 o más veces inferior a la que presentan los animales testigos uninefrectomizados o portadores de una ligadura semejante en un riñón, pero con el órgano opuesto intacto. Lo que es más significativo es que aquellos animales que han sido operados (uninefrectomizados y ligadura), pero que no desarrollan hipertensión presentan niveles de calicreína mucho más elevados, cercanos a los de los testigos. Además, en aquellos animales uninefrectomizados portadores de la ligadura, que después de un período de hipertensión normalizan su presión, los valores de calicreína, antes muy disminuidos, aumentan, aproximándose a los encontrados en los testigos. En general se encuentra una correlación inversa entre la magnitud de la hipertensión y la excreción de calicreína en la orina. Estos resultados podrían reflejar un compromiso de la capacidad de producir o activar la calicreína, como consecuencia del proceso desencadenado por ligadura.

Si se aceptara la hipótesis que el riñón puede regular doblemente el tono vascular mediante la entrega de un factor antagónico de la angiotensina, éste podría difícilmente ser bradicinina. Como es sabido, el pulmón es una barrera que inactiva con gran eficiencia la bradicinina, y esta no

lograría llegar a la periferia, a lo menos cuando alcanza concentraciones moderadas en la sangre que llega al corazón derecho. En cambio, la calicreína puede salvar fácilmente el obstáculo pulmonar y su acción vasodilatadora periférica es posible.

Es de interés adelantar que existen observaciones que muestran que la calicreína es capaz de relajar directamente la pared vascular (arterias coronarias) sin la mediación de su sustrato (Félix, 1939).

De acuerdo con estos conceptos, la participación del riñón en la regulación del tono vascular y del metabolismo del sodio, dejaría a estos dos procesos enzimáticos antagónicos íntimamente asociados. Estarían así controlados en gran parte por dos sistemas enzimáticos muy específicos, pero similares, que dan lugar a los dos agentes antagónicos más activos sobre la musculatura de los vasos. Esto da razón a la afirmación de Guyton (1969), quien sostiene que el árbitro supremo de la regulación sostenida de la presión sanguínea es, sin duda, el riñón.

De acuerdo con las investigaciones más recientes, la regulación de la tensión arterial frente a los cambios bruscos se ejerce primariamente por el sistema nervioso, el desplazamiento de fluidos entre el espacio intersticial y la sangre, y el mecanismo de estiramiento-retracción del sistema vascular. Sin embargo, estos factores, aun incluyendo el sistema nervioso, parecen no ser de gran importancia en la regulación del nivel básico y duradero de la presión sanguínea. Los hechos conocidos hasta el presente indican que esta regulación es *casi totalmente controlada por el riñón*. Pero la teoría renina-angiotensina no puede por sí sola explicar este papel del riñón (Guyton, 1969).

El avance logrado, ha ido estrechando poco a poco el cerco, aproximándose cada vez más a la noción de que es la alteración de un mecanismo, que tiene su punto de partida en el riñón y que aparentemente está muy relacionado con el metabolismo del sodio, la que por vía humoral mantiene la resistencia periférica en un tono más elevado. El riñón aparece, pues, no sólo como un órgano excretor, vigilante de la composición de la sangre, sino que participa en la mantención del volumen sanguíneo y actúa sobre el continente interviniendo en la regulación el tono de las arteriolas de todo el organismo. Vemos así que procesos humorales que se originan en el riñón, subordinan funciones tan alejadas y dispersas como

la contractilidad de los vasos. Este concepto ha abierto una nueva y hermosa perspectiva para el fisiólogo, ansioso de desentrañar la trama integradora que mantiene la portentosa unidad del organismo.

Para finalizar, quisiera expresar que si bien podremos tener hoy día opiniones muy diversas acerca del desenvolvimiento científico de nuestro país, éste nunca nos parecerá suficiente. Pero mirando hacia atrás, abarcamos las décadas que me ha tocado vivir en el quehacer científico, confrontando testimonios objetivos de ayer y de hoy, y no podemos sino experimentar un optimismo constructivo. No quiero acusar a mentes universitarias del pasado de supina despreocupación por el desarrollo de la investigación científica; pero no hay dudas acerca de que la comunidad científica tiene hoy una gravitación muchísimo mayor en la vida del país. Pensemos lo que en el último lustro ha representado el vigoroso desarrollo de las Sociedades de Biología, la creación de la Facultad de Ciencias en la Universidad de Chile, la creación del Consejo Nacional de Investigación Científica y Tecnológica y lo que significa la fundación de esta Academia de Ciencias del Instituto de Chile. ¿No son acaso la expresión genuina del sentimiento y la voluntad nacional de dignificar cada vez más la tarea de los hombres de ciencia y del reconocimiento de cuán trascendente es ésta para la vida y el futuro del país?

Me integro con orgullo a esta Academia, consciente de que mi ingreso no es para ganar una dádiva o de un diploma más que colgar ufana-mente en los muros de mi sala de trabajo, sino para incorporarme al grupo de hombres responsables y selectos que en posición alerta y ecuaní-me, progresista y audaz, están para realizar el enunciado simple, sin aderezos, como un capital griego, que reza en el artículo 1º del Reglamento de la Academia: "Promover a un nivel superior el cultivo de las Ciencias Matemáticas y Naturales".

REFERENCIAS

- Bergman, G. W. y Fruton, T.: *J. Biol. Chem.* Vol. 138: 249 (1941).
- Blaquier, P.; Bohr, D. y Hoobler, S.: *Am. J. Physiol.* Vol. 198: 1148 (1960).
- Croxatto, H. y Croxatto, R.: *Science* 95: 101 (1942).
- Croxatto, H.; Croxatto, R. y Alliende, J.: *Rev. Soc. Argent. Biol.* Vol. 18: 441 (1942).
- Croxatto, R. y Croxatto, H.: *Science.* Vol. 96: 519 (1942).
- Croxatto, H., Croxatto, R. y Sorolla, J.: *Rev. de Med. y Aliment.* Vol. 5: 135 (1942).
- Croxatto, H. y De la Lastra, M.: *Rev. Soc. Argent. de Biol.* Vol. 24: 73 (1948).
- Croxatto, H., Rojas, G. y Barnafi, L.: *Act. Physiol. Lat. Amer.* Vol. 2: 178 (1951).
- Croxatto, H.; Barnafi, L. y Passi, J.: *Act. Physiol. Lat. Amer.* Vol. 3: 159 (1952).
- Croxatto, H.; Barnafi, L.; Rojas, G.; Reyes, A. e Infante, A.: *Nature.* Vol. 171: 82 (1953).
- Croxatto, H.; Barnafi, L. y Parra, V.: *Endocrinology.* Vol. 54: 239 (1954).
- Croxatto, H.: *Proc. VIII Symp. of the Colston Res. Soc. Univ. Bristol.* Ed. H. Heller (1954).
- Croxatto, H.: *Polypeptides which stimulate plain muscle.* Ed. J. H. Gaddum (1955).
- Croxatto, H.; Pereda, T.; Mellado, R.: *Nature.* Vol. 184: (1958).
- Croxatto, H. y Belmar, J.: *Acta Physiol. Lat. Amer.* Vol. 12: 122 (1962).
- Croxatto, H.; Pereda, T.; Belmar, J., y Labarca, E.: *Annals of the N. Y. Acad. of Sciences.* Vol. 104: 146 (1963).
- Croxatto, H.; Labarca, E. y Cofré, G.: *Nature.* Vol. 199: 182 (1963).
- Croxatto, H.; Vera, R.; Roblero, J. y Belmar, J.: *The Canad. Med. Assoc. J.* Vol. 90: 313 (1964).
- Croxatto, H.; Zamorano, B.; Basáez, S.; Labra, I.; San Martín, M. L. y Ortiz, S.: *Major problems in neuroendocrinology.* Ed. E. Bajusz Basel (1964).
- Croxatto, H.; Labarca, E.; Swaneck, G. y Garfias, P.: *Amer. J. of Physiol.* Vol. 211: 587 (1966).
- Croxatto, H. y Díaz, G.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* Vol. 130: 465 (1969).
- Croxatto, H. y Roblero, J.: *Symposium on cardiovascular and neuroactions of bradykinin and related kinins.* Vol. 8: Plenum Press. N. Y. (1969).
- Cruz Coke, E.: *New Y. Acad. Sciences, Section of Biol.* (1945).
- Cushny, A. R.: *The secretion of urine.* Longmans. Green and Co. (1917).
- Eliash, H.; Sellers, A.; Rosenfeld, S. y Marmorston, I.: *J. Exp. Med.* Vol. 101: 129 (1955).
- Fasciolo, J. C.; De Vito, E. Romero, J. y Cucchi, I.: *The Canad. Med. Assoc. J.* Vol. 90: 206 (1963).
- Félix, J.: *Acta Med. Scand.* Vol. 83: 1 (1939).

- Franze de Fernández, M.; Paladini, A. y Delnis, A.: *Biochem. J.* Vol. 97: 540 (1955).
- Genest, J.; Nowaczynski, W.; Sandor, T. y Biron, P.: *Adrenocortical function in essential hypertension*. Ed. K. Bock y P. Cottier, Springer Verlag, Berlín (1960).
- Gerbi, C.: *Arch. Biochem.* Vol. 31: 49 (1951).
- Goldblatt, H.; Lynch, J.; Hanzal, R. F. y Summerville, W.: *J. Exp. Med.* Vol. 59: 347 (1934).
- Grollman, A.: *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* Vol. 27: 102 (1941).
- Grollman, A.; Muirhead, E. y Vanatta, J.: *Amer. J. of Physiol.* Vol. 157: 21 (1949).
- Gross, F.; Loustalot, P., y Sulser, F.: *Arch. Exper. Pat. u. Pharmakol.* Vol. 229: 381 (1956).
- Guyton, C. A.; Coleman, G. T.; Fourcada, C. J. y Navar, L. G.: *Bull. of N. Y. Acad. of Med.* Vol. 45: 811 (1969).
- Harms, W.; Blich, P.; Johnson, C. y Findley, T.: *Metabolism.* Vol. 11: 542 (1962).
- Hochstrasser, K.; Bachhuber, F. y Werle, E.: *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* Vol. 350: 1225 (1969).
- Houssay, B.: *Ciencia.* Vol. 1: 433 (1940).
- Hunt, J. C.: *Bull. N. Y. Acad. of Med.* Vol. 45: 877 (1969).
- Kenner, T. H. y Waldhaeus, W.: *Nature.* Vol. 204: 581 (1964).
- Khairallah, P.; Bumpus, F.; Page, I. H. y Smeby, R.: *Nature.* Vol. 196: 1059 (1962).
- Kurtz, A. B. y Wachsmuth, E.: *Nature.* Vol. 221: 92 (1969).
- Laragh, J.; Ulick, S.; Januszewicz, V.; Kelly, W. y Lieberman, S.: *Am. Inst. Med.* Vol. 53: 259 (1960).
- Lever, A. y Robertson, J.: *J. Physiol.* Vol.: 170: 212 (1964).
- Ludwig, C.: *Wagner's Handbuch D. Physiol.* Vol. 2: 628 (1944).
- Page, I. H. y Helmer, O.: *J. Exp. Med.* Vol. 71: 29 (1940).
- Peart, W. S.: *Biochem J.* Vol. 62: 520 (1956).
- Peart, W. S.: *Hypertension and the Kidney* Ed. E. Baulieu y P. Robel. Blackwell Scientific Publ. Oxford (1962).
- Richards, A. N.: *Amer. J. Med. Sc.* Vol. 170: 781 (1925).
- Rocha Silva, M.; Beraldo, V. y Rosenfeld, G.: *Amer. J. of Physiol.* Vol. 156: 261 (1949).
- Roblero, J. y Croxatto, H.: *N. Y. State J. of Med.* Vol. 68: 235 (1968).
- Rosas, R.; Miyata, T.; Hoobler, S. y Boer, D.: *Proc. Soc. for Exp. Biol. and Med.* Vol. 113: 456 (1963).
- Rosas, R.; Gómez, A.; Montague, D.; Gross, M. y Hoobler, S.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* Vol. 115: 4 (1964).
- Royce, P.: *Am. J. Physiol.* Vol. 215: 1429 (1968).
- Scornik, O. y Paladini, A.: *Am. J. Physiol.* Vol. 201: 526 (1961).
- Schwzyzer, R.: *Vitamins and hormones.* Vol. 18: 236 (1960).
- Skeggs, L. T.; Kahn, J. y Shumway, N.: *J. Exper. Med.* Vol. 103: 295 (1956).
- Sugarman, J.; Friedman, M.; Barret, E. y Addis, T.: *Am. J. Physiol.* Vol. 138: 108 (1942).
- Tigerstedt, R. y Bergman, P. G.: *Skandinav. Arch. f. Physiol.* Vol. 8: 223 (1898).
- Thurau, K., y Schnermann, J.: *Klin. Wschr.* Vol. 43: 410 (1965).
- Webster, M. y Gilmore, J.: *Am. J. Physiol.* Vol. 206: 714 (1964).
- Werle, E.; Hochstrasser, K. y Trautshold: *Hypotensive peptides*. Edit. Erdos, Back y F. Sicuteri. Springer Verlag (1966).

Discurso de recepción pronunciado por el Académico Jorge Mardones

Con el placer y el afecto con que se recibe en casa a un hermano, cumplo con la honrosa misión que me ha conferido la Academia de Ciencias de recibir como Miembro de Número al Profesor Héctor Croxatto Rezzio.

Porque, en verdad, con él, José Calvo, René Honorato e Ignacio Matte, somos hermanos gemelos en la actividad científica, pues nacimos a ella al mismo tiempo y en la misma cuna. Juntos nos sentamos en los bancos del primer curso de Química Fisiológica que dictara nuestro Maestro Eduardo Cruz Coke, y juntos, motivados por la trascendencia de la tarea que él señalara, de abrir un surco para el desarrollo de la ciencia en nuestro país, nos acercamos a su laboratorio donde, siendo todavía alumnos, empezamos a ensayar, bajo su magistral dirección, nuestras primeras y más primitivas armas para la conquista del saber en el terreno de la Química Fisiológica dinámica, que recién se había abierto en Europa.

Correspondieron a Cruz Coke el esfuerzo y los sinsabores propios de una tarea pionera en un terreno aún virgen; labor y significado que tuve la oportunidad de analizar en el discurso de recepción como Miembro Académico de la Fa-

cultad de Medicina de la Universidad de Chile, hace cerca de dos años. En cambio, quienes le seguimos, y entre ellos muy especialmente Croxatto, hemos podido gustar el placer que produce el trabajo científico, aunque arduo, cuando se realiza en laboratorios apropiadamente dotados y en un ambiente propicio. Pero la situación no era esa en la segunda mitad de la década del 20. Los primeros años de labor científica de Croxatto se realizaron en un laboratorio con escasez de instrumental y en que había que improvisarlo todo, incluyendo la obtención de los animales de experimentación. Eran tiempos anteriores a la llegada a Chile de las ratas de laboratorio, de modo que había que suplirlas con ratas grises salvajes, cazadas en el Matadero de Santiago. La literatura científica que se encontraba en las bibliotecas de la Universidad era escasísima, y prácticamente toda la información provenía de la biblioteca particular de Cruz Coke.

Sobreponiéndose a todas estas dificultades, y en tiempo robado a la asistencia a clases, cuando era estudiante, y al reposo, cuando ya asumió obligaciones profesionales, llevó a cabo investigaciones serias y bien orientadas en diversos campos, en especial el metabolismo de la vitamina D y del colesterol. Fue en esta época, cuando un grupo de investigadores encabezados por Cruz Coke, y estimulados por la presencia en Chile del eminente bacteriólogo francés Prof. Wollmann, fundamos la Sociedad de Biología de Santiago, como filial de la Société de Biologie de Paris. Entre ellos estaba Croxatto, como uno de los más entusiastas.

En 1931, cuando el Instituto de Educación Física, creado por el eminente pedagogo Joaquín Cabezas, se reponía del impacto a que lo había llevado el sentido castrense de la dictadura de Ibáñez, fue llamado por el Prof. Vargas Salcedo para desempeñar la Cátedra de Fisiología. No puedo dejar de hacer un breve recuerdo de la personalidad de este eminente universitario. Era profesor titular de la Clínica Quirúrgica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile y había sido desde muy joven Profesor de Anatomía en el Instituto de Educación Física. Su carácter de amigo personal del Presidente Arturo Alessandri, lo había hecho blanco de los ataques de la dictadura, que lo había privado de sus cargos. Producida la renuncia de Ibáñez, el nuevo gobierno encargó al profesor Vargas Salcedo, la reorganización del Instituto

de Educación Física, y él, mostrando un cierto juicio con respecto al futuro de esta disciplina, consideró que era indispensable robustecer la enseñanza de los ramos fundamentales y encauzarla dentro de un criterio científico. Con este fin llamó, entre otros a Croxatto, que aún no cumplía 25 años, a desempeñar la Cátedra de Fisiología.

Dispuso así Héctor de un laboratorio montado con los equipos de la Fisiología clásica y una motivación para estudiar la Fisiología del ejercicio, problema en el cual hizo contribuciones de gran importancia, aun utilizando métodos elementales. Recuerdo que en una oportunidad en que se corría en Santiago una carrera de maratón, fue autorizado para examinar a los competidores antes de la prueba. En este examen incluyó la determinación de la reserva alcalina, de acuerdo con las técnicas que Cruz Coke había puesto en boga entre nosotros. Su sorpresa fue grande cuando comprobó que ubicando a los competidores por orden decreciente de reserva alcalina, reprodujo fielmente el orden de llegada. Este hecho mostraba la importancia de la acidosis del esfuerzo en la fatiga de los corredores de fondo. En esa época realizó estudios acerca de la fatiga muscular y sus relaciones con la acidosis, las glándulas suprarrenales y el metabolismo de la creatina.

En 1933, cuando Ignacio Matte, profesor de Fisiología de la Universidad Católica, se ausentó del país para perfeccionarse en Inglaterra, Croxatto fue llamado para subrogarlo, y al año siguiente, cuando Matte abandonó la Fisiología para dedicarse a la Psiquiatría, donde su carrera culminó con la Cátedra de esta disciplina en la Facultad de Medicina, Croxatto ocupó en carácter de titular esa cátedra, que mantiene hasta hoy día.

Desde entonces, Croxatto ha compartido su labor de investigación en estos dos centros científicos, investigando problemas fisiológicos, enseñando a los alumnos y formando discípulos que han adquirido reconocida excelencia en la investigación fisiológica. Su lealtad a estos dos centros de estudio lo ha hecho rechazar más de una posición que a los ojos de otros pudiera ser más espectable.

A comienzos de la década del 40, Croxatto encuentra la veta científica que ha seguido explorando con éxito creciente, consiguiendo progresos que le han valido un sólido prestigio internacional. En 1942, cuando Houssay y Braun Me-

nández, en Argentina, y Page, en los EE. UU., desentrañaban el mecanismo de la hipertensión nefrógena, Héctor Croxatto, en un trabajo que es hoy día clásico, realizado en íntima colaboración con su hermano Raúl mostraron que la digestión de una proteína del plasma con pepsina, libera un péptido vasoactivo que denominaron pepsitensina. Estudiando la inactivación de este péptido y de la angiotensina con diversas enzimas, indujo características de su estructura, que fueron confirmadas después por Du Vigneaux, al realizar la síntesis de esta última sustancia. Posteriormente demostró que durante la incubación de plasma con pepsina se produce también un péptido de acción oclótica, la pepsitocina, y otro de acción antidiurética, la pepsanurina. Más tarde, mostró que incubando el suero sanguíneo de rata en medio ácido se produce un péptido de acción hipertensora en la rata nefrectomizada, que denominó anefrotensina. No es necesario que insista sobre ésta su línea principal de trabajo, porque vosotros acabáis de oír su magnífica exposición, en la cual con la modestia que le es habitual, no ha destacado suficientemente la labor propia en relación a la de otros.

Como corresponde a un genuino universitario y hombre de ciencias, la actividad de Croxatto no se ha limitado a realizar investigación original, perfecta y exitosa, sino que se ha dirigido también a la formación científica de nuestra juventud. Su acción ha traspasado ampliamente los umbrales de la cátedra, y se ha ocupado en especial de la formación de los profesores de la enseñanza secundaria. Movido por este anhelo, aceptó extender la acción de sus cátedras de Fisiología en ambas universidades a los respectivos Institutos pedagógicos, lo que ha significado una contribución trascendental a la formación de la mente científica de los profesores de Biología, que es base indispensable para crear en la juventud el hábito de juzgar objetivamente, sin lo cual la ciencia no podrá progresar en el país.

Dentro de esta misma línea de actividades, se ha ocupado del perfeccionamiento del profesorado, contribuyendo poderosamente a la organización y el funcionamiento del Centro de Perfeccionamiento del Magisterio, creado hace poco por el Ministerio de Educación Pública, y donde se desempeña actualmente como Consejero y Coordinador de los nuevos programas de la enseñanza científica en los niveles básico y medio.

No ha escatimado esfuerzo para formar dis-

cípulos capaces de continuar y de expandir su obra. La lista de ellos es larga. Las posiciones que ocupan en diversas universidades y centros de estudio y el prestigio de que gozan, constituyen para Croxatto un justificado motivo de orgullo.

Como expresión de su anhelo de fomentar el desarrollo de las ciencias en el país, ha sido un motor permanente de las actividades de la Sociedad de Biología de Santiago, hoy Sociedad de Biología de Chile, desde su fundación. En el seno de esta Institución su palabra es escuchada siempre con respeto y sus opiniones son consideradas con todo el valor que tienen las que provienen de un hombre de juicio sereno, que ha vivido activamente los años más difíciles del desarrollo de las ciencias biológicas en el país.

Croxatto se ha preocupado siempre de mantener las ciencias fisiológicas chilenas en contacto con el progreso mundial. Con este fin no ha escatimado sacrificios para concurrir a congresos internacionales donde no sólo ha llevado el resultado de sus investigaciones, sino que su mente abierta para recoger todas las informaciones que representan progreso. Con el mismo objeto, ha pasado períodos importantes de su vida en laboratorios de reconocido prestigio internacional, como el de Fisiología de Basilea, donde trabajó bajo la dirección de Verzar, de Física-Química de Harvard, donde colaboró con Cohn, y de Farmacología de la misma Universidad, donde trabajó con Krayner, y recientemente, en el Instituto de Farmacología de la Universidad de Hamburgo, donde realizó investigaciones como profesor visitante.

Basta recorrer laboratorios en diversos países del mundo, para percatarse del prestigio internacional de que Croxatto goza. Es casi habitual que al ser presentado a un investigador que sabe que uno viene de Chile, su primera pregunta es pidiendo noticias de Croxatto. Y no es raro, pues sus trabajos son considerados pioneros por todos quienes trabajan en su línea, y por este motivo ha sido invitado a escribir capítulos sobre polipéptidos activos en más de 10 libros editados en Europa, EE. UU. y América latina, y ha sido designado miembro honorario o activo de numerosas instituciones científicas extranjeras.

Croxatto no ha ejercido su profesión como Médico tratante, sino que se ha dedicado principalmente a la investigación y la enseñanza. En la época en que los sueldos universitarios tenían sólo un carácter simbólico y no permitían a na-

die vivir de esa tarea, Croxatto compartía su tiempo con funciones directivas en el Instituto Sanitas, durante su época de oro, que correspondió a aquella en que Cruz Coke quiso hacer de esa institución el comienzo de una verdadera Industria Farmacéutica Chilena, que fuera creadora de nuevos medicamentos a través de una investigación sistemática. Fueron los años en que esta institución cumplía funciones de Mecenas de la investigación científica chilena, facilitando a los investigadores instrumentos y reactivos, y financiando sus publicaciones.

En un discurso como éste, destinado a dar a conocer a Héctor Croxatto como hombre de Ciencias, no puede faltar una mención a Viola, esposa ejemplar, que no sólo supo formar con Héctor un hogar austero, de alto nivel intelectual, donde los hijos siguieron la trayectoria del padre y la hija heredó las virtudes de la madre, sino que también ha estado constantemente a su lado secundando su carrera científica, desempeñando, según las circunstancias, tareas de secretaria, traductora, embajadora o diligente compañera de viajes. En el ambiente científico internacional es tan conocido el matrimonio Croxatto, que son muchos los extranjeros que han creído que los trabajos que Héctor firmaba con su hermano Raúl, eran de los esposos Croxatto. Quienes hemos conocido a Héctor durante toda una vida,

sabemos bien de que modo ha permitido su desarrollo en el campo científico, la ayuda talentosa, discreta y eficaz de Viola, que ha sabido cargar silenciosamente sobre sí todo aquello que perturbara el cumplimiento de las labores universitarias y científicas de su marido.

Señor Presidente: no sé si estas mal hilvanadas frases, en que he dejado mucho en el tintero, han cumplido con el objetivo del discurso de recepción, es decir, el de dar a conocer a las personas que nos han honrado con su presencia en esta solemne ocasión, los motivos que ha tenido la Academia de Ciencias para llamar a su seno al Dr. Héctor Croxatto, las que pueden resumirse diciendo que ha reconocido en él sus condiciones de eminente hombre de ciencias y ha querido destacar su constante preocupación por el desarrollo científico en el país.

Dr. Croxatto: la Academia de Ciencias os ha invitado a incorporaros a ella no sólo como un reconocimiento a la excelente labor científica que habéis realizado, sino que muy especialmente porque tiene motivos para esperar de vuestra capacidad de acción y de vuestro ilustrado criterio, una colaboración permanente y eficaz en el cumplimiento de las obligaciones que la ley le ha impuesto.

VENTA DE BOLETINES
 E IMPRENTAS
 * - 9. FEB. 1971 *
 DEPOSITO LEGAL

BIBLIOTECA NACIONAL
 * 17 FEB 1971 *
 SECC. CONTROL Y CAT.