

INFLUENCIA DE DIFERENTES TIPOS DE TENSION O VIOLENCIA SOBRE EL NIVEL SANGUINEO DE HORMONA MELANOFORICA HIPOFISARIA EN EL HOMBRE

Influence of different types of stress on the pituitary melanophoric hormone blood levels in humans.

LUIS VARGAS

Departamento de Fisiopatología, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago.

Recibido para su publicación el 7 de Septiembre de 1964

RESUMEN

Se estudió el nivel sanguíneo de la hormona melanofórica (MSH) en 63 individuos normales y 3 recién nacidos por operación cesárea y 169 pacientes con diferentes tipos de tensión o "stress". Interesaba conocer si la MSH variaba en estas condiciones o si permanecía invariable como correspondería a un vestigio hormonal de la especie humana.

La determinación cuantitativa de la MSH sanguínea se realizó por medio del test de la expansión de los melanóforos de la piel del sapo *Pleurodema bibroni*. El oscurecimiento ocasionado por la MSH fue medido por comparación directa con la tabla del color amarillo-anaranjado del atlas de Villalobos. La curva dosis:respuesta previamente determinada con la MSH purificada, demostró que basta multiplicar por 4 las unidades encontradas, para conocer la cantidad de nanogramos contenida en la muestra. La inactivación espontánea de la ACTH se obtuvo dejando las muestras de sangre a la temperatura ambiente durante 24 horas.

El estudio de la sangre proveniente de individuos normales y enfermos, permite distinguir cuatro niveles promedios de la MSH circulante: a) el "nivel normal"; b) el de "tensión corriente"; c) alto propio de algunas afecciones pigmentarias cutáneas, y d) de "tensión excepcional".

La hormona melanofórica se encontró muy aumentada en la sangre de la madre y de su hijo obtenido por operación cesárea, correspondiendo su concentración al nivel máximo (d). No se apreció diferencia en la concentración de la MSH en la sangre arterial y venosa uterina materna, ni entre éstas y la arterial del cordón umbilical del niño.

La semejanza de los niveles sanguíneos de MSH encontrados en la rata y en el hombre cuando se someten a violencia equivalentes, permite concluir que la descarga de la hormona melanofórica hipofisaria puede formar parte del mecanismo adaptativo neuro-endocrino de la reacción general de adaptación descrita por Selye.

INTRODUCCIÓN

El interés por la hormona estimulante de los melanóforos (MSH) secretada por la hipófisis, se ha acrecentado desde que se demostró que la hormona adrenocorticotrófica (ACTH) producía en los anfibios la típica reacción de expansión de los

melanóforos con movilización de su melanina, lo que produce oscurecimiento de la piel. Las primeras investigaciones llevaron a proponer esta prueba biológica para determinar la ACTH de la sangre (1, 2). Los trabajos de purificación y de reconocimiento de la estructura polipeptídica de la ACTH y la MSH (3, 4) han permitido

disponer de MSH en estado puro, lo que ha facilitado su valoración biológica, así como el conocimiento de la diferencia entre ambas hormonas.

En los mamíferos, el efecto primario de la MSH es la estimulación de la síntesis de la melanina en los melanocitos, lo que determina que el oscurecimiento de la piel se produzca con mayor lentitud que en los anfibios. Igual que en estos últimos, puede ocasionar también una movilización de la melanina dentro del melanocito (5). Diversos investigadores han determinado los valores de MSH en la sangre de sujetos sanos y enfermos (6, 7). En el presente trabajo se estudia la concentración sanguínea de esta hormona en el hombre sometido a diversas condiciones de violencia. Interesaba dilucidar si la MSH constituye un mero remanente hormonal, especie de vestigio endocrino, o si su secreción experimenta variaciones ante situaciones de tensión. Del conjunto de los resultados obtenidos se concluye que la MSH participa en la compleja adaptación del ser humano ante estímulos endógenos y exógenos capaces de alterar el funcionamiento del sistema neuroendocrino.

MATERIAL Y MÉTODOS

El material humano usado en nuestras observaciones corresponde a 50 sujetos adultos sanos, 13 lactantes sanos y 169 pacientes de diversos trastornos patológicos, cuyo detalle se indica en los resultados correspondientes. Entre estos figuran 90 pacientes de enfermedades pulmonares que iban a sufrir lobectomía, en los cuales se determinó el nivel sanguíneo de MSH una hora antes de la intervención e inmediatamente después de terminada ésta. Asimismo, en 3 mujeres que iban a ser sometidas a operación cesárea se determinó el nivel de MSH en la sangre por punción directa de los vasos periuterinos y del niño, por punción de la arteria umbilical. En 5 pacientes mentales se determinó el nivel antes y después de ser sometidos a tratamiento con choque eléctrico, en más de una oportunidad. Los 22 pacientes que sufrían de úlcera duodenal en plena crisis tenían confirmación radiológica de la lesión.

El método empleado para la determinación de la MSH en la sangre ha sido descrito en detalle en otra oportunidad (8) y consiste fundamentalmente en la valoración de la expansión de los melanóforos cutáneos del sapo chileno *Pleurodema bibroni*, mediante la evaluación del grado de oscurecimiento de la piel que se produce en el animal en ambiente iluminado cuando se administra esta hormona. La evaluación del color se realiza por comparación directa con la escala de colores del atlas de Villalobos en la tabla del tinte ama-

rillo-anaranjado (9). En este batracio la curva de la relación dosis:respuesta se mostró suficientemente regular como para servir en la valoración; la respuesta equivalente a la que produce una unidad melanofórica se consiguió con la dosis de 4 ng de MSH purificada por el Prof. C. H. Li (8). La Fig. 1 muestra la relación entre la dosis y la respuesta. El color de la piel obtenido después de someter al animal a iluminación durante 24 horas, correspondió en general al número 8 de la columna grado octavo de la tabla mencionada. El oscurecimiento producido por la acción de la MSH se expresa en un desplazamiento hacia los números inferiores de la tabla de colores. Se ha considerado como una unidad el desplazamiento de dos números de la escala. A pesar de que en *Rana esculenta* (11) se ha descrito una mayor sensibilidad de la hembra, en *P. bibroni* no hemos observado diferencia entre ambos sexos.

La sangre que iba a ser sometida a la prueba se recogió en general por punción venosa en frascos que contenían la mezcla anticoagulante de Wintrobe (11), la que de por sí no produce ninguna modificación en la coloración cutánea del anfibio. La sangre se dejó durante 24 horas a la temperatura del laboratorio, pues deliberadamente no se tomó ninguna precaución para evitar la destrucción de la ACTH. Los sapos que iban a ser utilizados en el experimento se dejaron en grupos de cuatro en cada matraz de Erlenmeyer de 500 ml y fueron sometidos a una iluminación constante durante las 24 horas anteriores a la prueba, y durante todo el curso del experimento. Los sapos de un matraz se dejaron de testigos y los del otro recibieron la muestra de sangre en cantidad de 0,2 ml en el saco dorsal o en la zona ventral. Cada muestra se estudió en los cuatro sapos de un matraz. La comparación del color se practicó en los sapos antes de iniciar el experimento y 30 y 60 minutos después de la inyección.

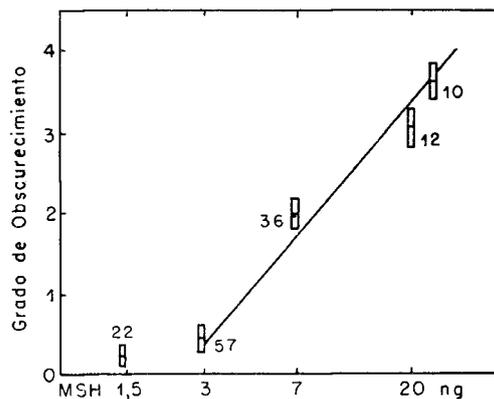


FIG. 1. Dosis-respuesta de MSH en el sapo *Pleurodema bibroni*. Abscisas: dosis de MSH (escala logarítmica). Ordenadas: respuesta melanofórica, expresada en grado de oscurecimiento de la piel. Cada barra representa la media aritmética \pm un error típico. Las cifras junto a las barras indican el número de experimentos. Datos tomados de Vargas *et al.* (8).

En cada caso se tomó el promedio del cambio máximo observado en cada uno de los cuatro animales que recibieron la inyección. La actividad se ha expresado en unidades por ml de sangre. De acuerdo con los datos, es claro que un cambio de un número producido por 0,2 ml de sangre corresponde a 2,5 unidades por ml. De acuerdo con la curva dosis:respuesta, para expresar las unidades en cantidad absoluta de MSH puro, basta multiplicar las unidades por 4 ng.

TABLA I

Contenido de MSH en el suero sanguíneo en individuos normales y en pacientes de diversos grupos de enfermedades

Nº de casos	Grupo	MSH en suero U/ml *	Observaciones
50	Adultos normales	0,3±0,07	Nivel normal
13	Lactantes normales	0,8±0,2	
8	Enf. Cardio-vasculares	1,0±0,2	Nivel de tensión corriente
24	Enf. Bronco-pulmonares	1,4±0,2	
11	Enf. Addison	1,8±0,3	
5	Psicosis depresiva	1,9±0,3	
21	Úlcera gástrica	2,0±0,2	
5	Síndrome Cushing	2,0±0,4	2,0±0,3 **
19	Afecc. Ap. digestivo y anexos	2,5±0,2	Nivel de tensión excepcional
3	Síndrome adrenogenital	3,0±0,4	
3	Insuf. prehipofisaria	3,0±0,7	
5	Varios	3,0±0,5	
15	Vitiligo	4,5±0,7	
6	Pigmentación facial	4,7±0,9	
14	Lactantes distróficos	4,9±0,7	7,0±1,1 **
3	Recién nacido por cesárea	5,3±1,5	
3	Operación cesárea	7,1±1,2	
22	Úlcera duodenal	7,5±0,7	8,2±1,5
5	Psicosis depresiva, post-choque eléctrico	8,2±1,5	

* Media aritmética ± error típico.

** $P < 0,001$ con relación al nivel normal.

RESULTADOS

En la Tabla I aparecen los resultados obtenidos en los distintos grupos experimentales, ordenados en forma creciente según el promedio de concentración de MSH en la sangre. Arbitrariamente se ha separado un grupo que difiere del normal y que incluye diversas afecciones endocrinas y no endocrinas con un promedio de $2,0 \pm 0,3$ U/ml y otro de embarazo + cesárea, úlcera duodenal y psicosis depresiva consecutiva al choque eléctrico, con $7,0 \pm 1,1$. Entre estos dos grupos quedarían los casos de vitiligo, pigmentación cutánea facial y los lactantes distróficos.

En primer lugar llama la atención la baja concentración observada en los pacientes con enfermedad de Addison, a pesar de que en todos ellos había intensa pigmentación melánica de la piel. En segundo lugar, como ya hicimos notar en otra oportunidad (8), existe un aumento importante de la MSH de los pacientes que sufren de úlcera duodenal, aumento que es significativamente mayor que el que se observa en los pacientes que sufren de úlcera gástrica. En los lactantes distróficos se observó también un aumento significativo de la MSH sanguínea, si se compara tanto con los adultos normales como con el grupo de lactantes eutróficos.

Llama la atención el hecho de que la violencia que significa una intervención quirúrgica de cirugía mayor en el tórax, no modificó significativamente el nivel de MSH en la sangre. En efecto, como puede apreciarse en la Tabla II, los individuos operados mostraron después de la operación un contenido de $1,7 \pm 0,3$ U/ml, el que no difiere significativamente del observado antes de la operación. En cambio, el choque eléctrico en pacientes mentales produjo claramente un aumento de la MSH sanguínea. Este aumento no fue claro inmediatamente después del primer choque o de los choques siguientes; pero fue evidente en los períodos que mediaban entre choque y choque. En la sangre arterial del cordón umbilical de los recién nacidos por operación cesárea se encontró una cifra alta, en promedio $5,3 \pm 1,5$, que es significativamente mayor que la de los lactantes normales.

TABLA II

Contenido de MSH en el suero de pacientes sometidos a operación quirúrgica o a choque eléctrico

Grupo en estudio	Nº de casos	MSH en sangre U/ml *
Stress provocado por: cirugía mayor del tórax		
Antes operación	20	1,4±0,2
Después operación	20	1,7±0,3
Stress provocado por: choque eléctrico		
1) Antes 1er. choque	5	1,9±0,3
2) Inmediatam. desp.	5	2,7±0,7
3) Tardíamente	5	8,2±1,5 **
4) Inmediatam. desp. choques siguientes	5	2,7±0,6

* Media aritmética ± error típico.

** P < 0,02 comparado con antes del primer choque.

DISCUSIÓN

La prueba biológica empleada revela con toda probabilidad la presencia de la MSH en la sangre. Como demostráramos anteriormente, preparados de ACTH comercial tenían una actividad melanofórica que iba desde 0 hasta valores cuatro veces inferiores al de la MSH purificada, al comparar la actividad sobre base ponderal (8). Esto significa que si se hubiera conservado algo de ACTH en las muestras ensayadas, no habría alcanzado a influir en el resultado. Esto se confirma con los resultados obtenidos en los pacientes con enfermedad de Addison, donde se sabe que la ACTH está aumentada y que, sin embargo, dieron prueba negativa de MSH. Recordamos que en la recolección de la muestra no se tomó precaución alguna para evitar la destrucción de la ACTH, la cual ocurre espontánea y rápidamente, a menos que se trate la sangre de inmediato con acetona u otro procedimiento especial (14, 15).

Los resultados observados en la úlcera duodenal y en el choque eléctrico, demuestran claramente que en estas dos condiciones de tensión, se ha producido un importante incremento de la MSH circulante. Las concentraciones encontradas en estos pacientes corresponden a las más altas registradas en nuestra casuísti-

ca. Este aumento de la MSH sanguínea puede considerarse como una parte de la reacción neuro-endocrina descrita por Selye en el síndrome general de adaptación (16). Las cantidades de MSH halladas en el plasma de pacientes con úlcera gástrica o duodenal demuestran una clara diferencia entre estas dos enfermedades (2,0 versus 7,5 U/ml, respectivamente). Habría que aceptar que en el síndrome de la úlcera duodenal existe un estado de violencia o de reacción a la violencia superior al que se produce en la úlcera gástrica. Esta sugerencia se ve reforzada por los altos valores encontrados en el choque eléctrico (8,2 U/ml). Por otra parte, los diferentes valores de MSH en los pacientes con úlcera gástrica, duodenal, lactantes distróficos o psicóticos sometidos a choque eléctrico, indican que la respuesta inespecífica a la violencia, puede ser cuantitativamente diferente (Tabla I).

Los resultados obtenidos con la sangre del territorio uterino de mujeres embarazadas de término, sometidas a operación cesárea, corresponden a los niveles más altos de MSH. Esto podría sugerir que estas pacientes se encuentran en una situación de emergencia extrema, lo que teóricamente podría deberse a la asociación del embarazo más la anestesia y operación quirúrgica. Como ya vimos que el factor operatorio no es capaz de producir un aumento rápido de la MSH circulante, habría que inclinarse a aceptar que el embarazo de término "per se" influye en tal aumento. A este respecto, se conoce que el MSH aumenta desde la octava semana de la gestación hasta el término y que se normaliza unos pocos días después del parto. Aunque es de mucho interés que los valores de la MSH tanto del lado materno como fetal hayan sido similares, su interpretación requiere conocer los valores de la MSH del recién nacido. Queda así abierto este problema.

No se encontró aumento de la MSH después de lobectomías del pulmón, lo que puede haberse debido a que las muestras de sangre fueron tomadas muy inmediatamente después de la operación (minutos después, con excepción de dos casos, con media y una hora después). De todos modos esta observación se refuerza con la del choque eléctrico, donde tampoco hay aumento rápido de la MSH, pero sí tardío entre choque y choque, lo que

TABLA III

Contenido de MSH sanguíneo en la rata y en el hombre sometidos a diversos tipos de violencia

H o m b r e		
Grupo	Nº casos	U/ml **
Testigo	50	0,3±0,7
Anestesia y operac.	20	1,7±0,3
Lactantes distróf.	14	4,9±0,7
Choque eléctrico	5	8,2±1,5

R a t a *		
Grupo	U/ml ** animales	Nº
Testigo	6	1,0±0,3
Anestesia etérea	27	2,0±0,2
Asfisia por gas	6	4,0±0,6
Golpe nuca	6	7,0±0,5

* Datos tomados de Vargas, Feuereisen y Salvestrini (6).

** Media aritmética ± error típico.

Todos los valores son estadísticamente diferentes tanto en relación con el control, como entre sí ($P < 0,001$).

tiene importancia porque permitiría separar cronológicamente la descarga de la MSH de la de ACTH, la cual es inmediata al estímulo de alarma.

Si se comparan los resultados obtenidos en los procesos patológicos y en las violencias en el hombre con lo que se observa en la rata sometida a diversos tipos de violencia (10) parece que tanto los niveles básicos como los niveles que se consiguen por acción de violencia, son del mismo orden en una y otra especie (Tabla III); sin embargo, ellos se diferencian en que la elevación se observa en la rata rápidamente después de producida la violencia, mientras que el efecto en la especie humana aparece mucho más tardío.

AGRADECIMIENTOS

El autor agradece la valiosa colaboración de la Sra. Loreto de Feuereisen en la realización de las pruebas biológicas. Asimismo agradece, en forma especial, la cooperación prestada por los siguientes médicos en la obtención de las muestras de sangre y en la se-

lección de los pacientes: Dr. P. Atria, Cátedra de Medicina, U. Católica de Chile; Dr. Ebensperger, Cátedra de Cirugía, U. Católica de Chile; Prof. E. Keymer, Cátedra de Obstetricia, U. de Chile; Prof. J. Meneghello y Dr. F. Beas, Cátedra de Pediatría, U. Católica de Chile; Dr. I. Mena, Cátedra de Medicina, U. Católica de Chile; Dr. P. Naveillán, Hospital Psiquiátrico, U. de Chile; Dr. H. Orrego-Matte, Cátedra de Medicina, U. de Chile; Prof. H. Salvestrini, Cátedra de Cirugía, U. Católica de Chile.

El MSH purificado fue gentilmente proporcionado por el Prof. Choh Hao Li (Departamento de Bioquímica, Universidad de California, Berkeley, Calif., EE. UU.). De acuerdo con nuestra dosificación contenía por mg, $2,5 \times 10^5$ Unidades Melanofóricas.

SUMMARY

The human blood concentration of the melanocyte-stimulating-hormone (MSH) was determined by means of the expanding-melanophore test in the toad *Pleurodema bibroni*. The degree of darkness of the toad skin was assayed with the help of the orange-yellow color table of the Villalobos' atlas. The toads were illuminated 24 hours prior to, and throughout the test. Under this condition a maximum lightness of the skin color was obtained, maintaining the light a permanent inhibition of the pituitary MSH secretion. The sensitivity of this test was previously standardized using a purified Li's MSH preparation. The minimal effective dose was 4 ng, equivalent to 1.0 Melanophoric Unit (Fig. 1).

In order to have only MSH in the blood sample, spontaneous inactivation of the ACTH was allowed, keeping the blood samples during 24 hours at the room temperature. The usefulness of the procedure seems to be proved in the group of patients with Addison disease. In these patients, in spite of being the ACTH greatly augmented, the MSH content was rather low (Table I).

The study of the blood from normal individuals and patients permitted to distinguish 4 different blood levels (Table I): the normal level of the order of 0.35 U/ml, found in 50 health subjects; b) the current stress level of 2.0 U/ml encountered in 104 patients affected with several types of disease; c) the high level of 4.7 U/ml, characteristic of certain pigmented facial cutaneous diseases, and d) the maximum level of 7.0 U/ml observed in conditions of highest tension, such as

duodenal ulcer, pregnancy plus cesarian operation and psychotic patients treated with electroshock.

The differences of these levels were statistically significant. This permit to conclude that under the usual psychological stimulus of any disease (b and c) or under a condition of severe stress (d) the circulating MSH increased significantly.

There was a certain relationship between the degree of the stress and the intensity of the pituitary MSH response. This is illustrated by the figures got in current diseases (b) and severe stress (d) (Table II). It is interesting that the increase in MSH is late, contrary to the rapid augmentation of the ACTH characteristic of the stress response. This has been demonstrated immediately after surgical operation and electroshock.

The melanocyte - stimulating - hormone was increased in the maternal and newborn blood (Table I). The values of MSH found were of the maximum level (d). There was no difference between the MSH concentration of the arterial and venous maternal blood or between these and the arterial newborn blood.

The MSH blood levels found in rats and humans under comparative types of stress were similar, suggesting that the increase of pituitary MSH secretion could be a part of the adaptive neuro-endocrine mechanism of the stress.

REFERENCIAS

- 1.—JOHNSON, S. y HOEGBERG, B.—Nature **169**:286, 1952.
- 2.—SULMAN, F. G.—Lancet **1**:1161, 1952.
- 3.—GESHWIND, I. I.; LI, C. H. y BARNAFI, L.—Am. Chem. Soc. **78**:4494, 1956.
- 4.—HARRIS, J. I.—Nature, Lond. **184**:167, 1959.
- 5.—STUBBLEFIELD, E.; ESCUE, R. B. y UTT, J.—Science **126**:28, 1957.
- 6.—JORES, A.—Z. Ges. Exp. Med. **87**:266, 1933.
- 7.—SHIZUME, K. y LERNER, A. B.—J. Clin. Endocrinol. **14**:1491, 1954.
- 8.—VARGAS, L.; ORREGO, H. y FEUEREISEN, L.—J. Clin. Endocrinol. & Metab. **16**:662, 1956.
- 9.—VILLALOBOS, G. y VILLALOBOS, J.—“Atlas de los Colores”. Buenos Aires, Ateneo, 1947.
- 10.—VARGAS, L.; FEUEREISEN, L. y SALVESTRINI, H.—Descarga de intermedia por estímulo de alarma. Primera Reunión Asociación Latino-Americana de Ciencias Fisiológicas, Abril de 1957, Montevideo, Uruguay. pág. 176, Resúmenes de trabajos.
- 11.—THING, E.—Acta Endocrinol. **11**:74, 1952.
- 12.—WINTROBE, M. M.—“Clinical Hematology”, Lea and Febiger, Philadelphia, 1942.
- 13.—MOENCKEBERG, F.; DONOSO, G.; OXMAN, S.; PACH, N. y MENEGHELLO, J.—Pediatrics **31**:58, 1963.
- 14.—SULMAN, F. G.—Lancet **2**:247, 1952.
- 15.—PINCUS, G.; HOPKINS, T. F. y HECHTER, O.—Arch. Biochem. Biophys. **37**:408, 1952.
- 16.—SELYE, H.—J. Clin. Endocrinol. **6**:117, 1946.