



Unidad de Allen-Doisy

Nos referimos a la “unidad rata” y “unidad ratón”. La primera es la mayor dilución de estrina que administrada a una rata adulta castrada, en tres inyecciones con cuatro horas de intervalo, produce la cornificación y descamación del epitelio vaginal; la segunda es la menor cantidad de estrina que produce en una rata castrada una degeneración característica del epitelio vaginal.

Edward Adelbert Doisy (1893-1986)

José L. Fresquet

(Instituto de Historia de la Ciencia y Documentación. Universidad de Valencia - CSIC)

Versión impresa de
<http://www.historiadelamedicina.org/doisy.htm>
(Noviembre, 2005)

A finales de la Primera Guerra Mundial ya se conocían tanto la estructura como las propiedades químicas de gran número de componentes de los tejidos vivos. El interés de los bioquímicos fue orientándose cada vez más hacia el estudio de los cambios químicos asociados a los procesos fisiológicos.

En el terreno de las vitaminas, la existencia de estos compuestos fue intuida desde finales del siglo XIX. Sin embargo, hasta 1912 no fue posible confirmarlo. Se considera como hito la publicación por Frederick Hopkins (1861-1947), en el *Journal of Physiology*, del trabajo en el que ponía de manifiesto que había unos “factores alimentarios accesorios” en la leche necesarios para el normal crecimiento de unas ratas alimentadas exclusivamente con una dieta purificada (una mezcla de azúcares, grasas y proteínas).

En un intervalo de pocos años se identificaron varios factores vitamínicos y su defecto se relacionó con diferentes enfermedades. En cambio, el conocimiento de la estructura química de estos factores se retrasó un poco. El químico británico G. Barrer afirmaba que “Es tan poco lo que sabemos acerca de la química de las vitaminas – ni una sola ha podido ser aislada con absoluta seguridad-, que he sentido titubeos ante la inclusión de este tema entre las aplicaciones de la química orgánica. La abundante literatura actual sobre las vitaminas, que tan gran espacio ocupa en las publicaciones dedicadas a la bioquímica, contiene escasos datos químicos y pocas cosas que hayan podido establecerse con certeza”.

En los años cincuenta del siglo XX se habían aislado y

Obras fundamentales de E.A. Doisy

•Bell, R.; Doisy, E.A. Rapid colorimetric Methods. J. Biol. Chem., 1920, vol. 44, pp. 55-67.

•Allen, E.; Doisy, E.A. An ovarian hormone. Jour. Amer. Med. Ass., 1923, 81: 819-21.

•Allen, E.; Doisy, E.A. The induction of a sexually mature condition in immature females by injection of the ovarian follicular hormone. Amer. Jour. Physiol., 1924, 69: 577-88.

•The preparation of the crystalline ovarian hormone from the urine of pregnant women. J. Biol. Chem., 1930, 86: 499-509.

•Isolation of the principle oestrogenic substance of liquor folliculli (Journal of Biological Chemistry, 1936; 115: 436-48.

•MacCorquodale, D.W.; Thayer, S.A., Doisy, E.A. Isolation of the principle oestrogenic substance of liquor folliculi. J. Biol. Chem., 1936, 115: 435-48.

•Binkley, S.B._ con D.W. MacCorquodale, S.A. Thayer, y E.A. Doisy. The isolation of vitamin K1. Journal of Biological Chemistry, 1939, 130, 219-34.

•Allen, E.; Danforth, C.H.; Doisy, E.A.(Eds). Sex and Internal Secretions. Baltimore, The Williams & Wilkins Company, 1939.

•Binkley, R.W. McKee, S.A. Thayer y E.A. Doisy. The constitution of vitamin K2. Journal of Biological Chemistry; 1940, 133: 721-29.

caracterizado desde el punto de vista químico la mayor parte de las vitaminas que hoy conocemos. Se abrió así la posibilidad de fabricarlas por síntesis a escala industrial. Este capítulo constituye un excelente ejemplo de la relación entre química y bioquímica en medicina. La historia de las hormonas siguió un camino paralelo, excepto que la estructura química de algunas se conoció primero. Es en estos campos y durante este periodo donde podemos enmarcar la obra de Doisy.

Edward Adelbert Doisy nació en Hume, un pequeño pueblo de 500 habitantes de Illinois, el 3 de noviembre de 1893. Su padre era Edward Pérez, representante de comercio; su madre se llamaba Ada. Terminó los estudios secundarios en 1910.

Su familia se trasladó a Champaign, Illinois, en 1910. Allí comenzó el preparatorio de medicina. Durante esta época realizó con gran interés cursos de química inorgánica y orgánica. Siguió después materias como la bacteriología, fisiología, y química fisiológica. Se formó en la Universidad de Illinois, donde obtuvo el *bachelor's degree* en 1914, y el *master's degree* dos años después.

Entre 1915 y 1917 fue ayudante de bioquímica en la *Harvard Medical School*, después de ganar la beca que ofreció el *Harvard Club of Chicago*. Allí estuvo trabajando con Otto Folin, quien le encargó que estudiara el tema de la creatina – creatinina, así como su determinación. En este campo las técnicas mejoraron cuando se utilizaba ácido pícrico purificado. Por problemas económicos regresó a la casa de sus padres donde pasó el verano –según nos dice- con “un estimulante y bien informado profesor de bioquímica”, Howard B. Lewis. “Él ponía el cerebro, y yo el trabajo analítico en un estudio sobre la excreción del ácido úrico”.

En 1917, con la llegada de la Primera Guerra Mundial (1914-1918), deseaba formarse en la escuela de oficiales, pero sus amigos le disuadieron de tal idea y le convencieron de que sería de mayor utilidad como bioquímico. J.C. Murlin, jefe de la División de Alimentación y Nutrición, le transfirió a Washington DC. Sin embargo, siguiendo sus deseos, pasó por la escuela de oficiales, estuvo en Camp Grant (Illinois), Camp Gordon (Georgia), y en la Escuela de Armas de Camp Perry (Ohio). Se le ofreció la posibilidad de trasladarse al Instituto Rockefeller, en Nueva York, pero Doisy rechazó la propuesta y pasó al cuerpo sanitario. Estuvo con el bioquímico Donald D. Van Slyke (1883-1971) quien le enseñó todo sobre la determinación de los gases en

sangre. Contactó más tarde con Richard D. Bell, que había estado en el laboratorio de Folin; éste le trasladó al *Walter Reed Hospital* en Washington, donde ambos se dedicaron a la investigación y llegaron, incluso, a publicar algún artículo sobre la determinación de fosfato inorgánico y de sodio en sangre. En 1918 Doisy se casó con Alice Ackert; tuvieron cuatro hijos.

En 1919, finalizadas sus tareas en el ejército, P. A. Shaffer, que había trabajado con Otto Folin en el *Malean Hospital* de Waverly, Massachussets, le ofreció un puesto en el Departamento de Bioquímica de la Escuela de Medicina de la Universidad de Washington. Empezó con su equipo trabajos sobre el ácido úrico y los gases en sangre, que dieron lugar a varias publicaciones. Desde el Hospital de niños se le pidió que extrajera insulina para el tratamiento de algunos niños diabéticos, poco después de los hallazgos de Banting y Best. La extracción y purificación de esta sustancia que obtuvo de terneras fue un éxito.

Por esa época conoció a Edgar Allen (1892-1943), biólogo que estaba en el Departamento de Anatomía y que investigaba el ciclo estrogénico de las ratas. Doisy accedió a preparar extractos de tejido ovárico para él. Allen se percató de que el desarrollo del ciclo ovárico precedía a la aparición de células escamosas cornificadas (células epiteliales) en la vagina. Inyectó fluido folicular en ratas ovariectomizadas y aparecieron esas células cornificadas vaginales. Doisy continuó preparándole extractos de líquido folicular, cuerpo lúteo, de ovario, placenta, etc. Uno de sus trabajos, que publicó con Allen, lleva el título “An ovarian Hormones”, y apareció en el *Journal of the American Medical Association* (1923). En medicina hablamos de “Unidad de Allen-Doisy” para referirnos a la “unidad rata” y “unidad ratón”. La primera es la mayor dilución de estrina que administrada a una rata adulta castrada, en tres inyecciones con cuatro horas de intervalo, produce la cornificación y descamación del epitelio vaginal; la segunda es la menor cantidad de estrina que produce en una rata castrada una degeneración característica del epitelio vaginal.

Ambos se separaron en 1923 por motivos profesionales; Allen fue a la Universidad de Missouri y Doisy fue nombrado profesor de bioquímica en la *St Louis University School of Medicine*. Un año más tarde, en 1924, llegó a ser decano de la misma. Aunque Doisy siguió preparando extractos para Allen durante un tiempo, la distancia entre las dos ciudades acabó por dificultar la colaboración entre ambos.

Doisy continuó, no obstante, trabajando en las hormonas sexuales. Sin embargo, durante un tiempo, pocos fueron los progresos que hizo con el estudio del extracto folicular. La “hormona” era soluble en varios líquidos orgánicos, estable en soluciones alcalinas, se podía destilar a presiones bajas, pero no podía obtenerse de forma pura. Mientras tanto Selmar Aschheim (1878-1965) y Bernhard Zondek (1891-1966), en 1927, descubrieron que la orina de las mujeres embarazadas poseía actividad estrogénica. Siguió probando varios procedimientos hasta que, finalmente, obtuvo un producto cristalizado. El hallazgo fue presentado en el *XIII Internacional Physiological Congress* que se celebró en Boston en agosto de 1929.

Doisy trabajaba entonces con su equipo, del que formaban parte estudiantes graduados como Sydney A. Thayer, Philip A. Katzman, Jack Curtis y Louis Levin. También se incorporó el químico especializado en química orgánica D.W. MacCorquodale. Entre 1929 y 1930 aisló la estrona (un tipo de estrógeno de fórmula empírica $C_{18}H_{22}O_2$ que segrega el ovario, sintetizada con el nombre de estronol, y que se usó para tratar deficiencias estrogénicas). Este hallazgo también lo llevó a cabo en esos años el alemán Adolf Frederick Johann Butenandt (1903-1995). La publicación representativa de este momento fue “The preparation of the crystalline ovarian hormona from the urine of pregnant women” (*Journal of Biological Chemistry*). La terapéutica estrogénica moderna comenzó en realidad con los estrógenos no esteroideos sintéticos, que Doods introdujo en 1938, pronto sustituidos por los naturales y, a partir de 1948, por el estradiol sintético.

En 1936, en colaboración con MacCorquodale y Thayer, Doisy aisló el estradiol del ovario de cerdas e hizo una estimación de su concentración en el líquido folicular. El trabajo representativo de esta etapa fue “Isolation of the principle oestrogenic substance of liquor folliculli” (*Journal of Biological Chemistry*, 1936). Ese mismo año también publicó el libro *Sex hormones*. Por tanto, Doisy logró aislar y determinar la estrona (*theelin*, 1929), el estriol (*theelol*, 1930), y estradiol (*dihydrotheelin*, 1935).

En 1936 fue admitido en el equipo Ralph McKee. Comenzaron a trabajar en el estudio de agentes anti-hemorrágicos presentes en la harina de pescado. La historia de la vitamina K comenzó con Henrick C.P. Dam (1895-1976). Éste observó en 1929 que alimentando polluelos con una dieta sintética muy baja en grasas, a la que se agregaba vitaminas del complejo B

y vitaminas A y D, aparecían hemorragias en la piel, mucosas y vísceras. Las manifestaciones no se podían tratar ni prevenir con la administración de vitamina C (no se trataba, por tanto, de escorbuto). Se debían a una alteración de la coagulación de la sangre. Apreció que las pérdidas sanguíneas mejoraban cuando se incluían ciertas semillas en la dieta de los polluelos, de lo que dedujo que debía existir una sustancia, distinta de la vitamina C, que intervenía directamente en los procesos de la coagulación. Dam averiguó que las hemorragias eran consecuencia de un déficit de una vitamina liposoluble, para la que se propuso el nombre de vitamina K (inicial de la palabra alemana *Koagulation*). A pesar del hallazgo, el profesor danés no logró aislar la vitamina K en estado puro, pero detectó su presencia en numerosas plantas y en el hígado de animales.

Numerosos bioquímicos comenzaron a trabajar en esta línea, destacando el equipo americano de Doisy. Durante algún tiempo Stephen Binkley, Lee Cheney y Walter Holcomb, de *Parke, Davis and Co*, les ayudaron en los trabajos químicos. Binkley separó la vitamina de la clorofila, de la alfalfa. Probó veinte sustancias hasta encontrar el *permutit* que Folin había introducido para determinar el amoníaco en orina en 1920. Fue de gran utilidad para obtener la vitamina K de la alfalfa y también de la harina de pescado. Tuvieron que obtener cantidades suficientes para seguir investigando. Primero se cristalizó la vitamina K2 y después Binkley cristalizó la K1 que es un aceite a temperatura ambiente. Pudo dar comienzo así el estudio de la estructura de ambas sustancias.

Por fin el equipo de Doisy pudo determinar la estructura de la vitamina. En 1939 publicaron “The isolation of vitamin K1” en el *Journal of Biological Chemistry*. Simultáneamente otros investigadores que trabajaban en la misma línea como Louis Frederick Fieser, Herman Almquist y E.L. Stokstad, Barrer y colaboradores llegaron a los mismos resultados “Síntesis of vitamin K1”, *Journal of the American Chemical Society*. Dam y Doisy compartieron el Premio Nobel de Fisiología y Medicina, en 1943. Es necesario mencionar también el trabajo de Doisy con Binkley, R.W. McKee y Thayer, “The constitution of vitamin K2”, *Journal of Biological Chemistry* (1940).

En 1939, Doisy con la colaboración de Edgar Allen y C.H. Danforth, publicó el libro *Sex and Internal Secretions*. En 1941 apareció también *Female sex hormones*.

Después de la Segunda Guerra Mundial Doisy traba-

jó en otros campos buscando técnicas para aislar e identificar la insulina, sobre el conocimiento de los antibióticos, sobre los sistemas tampón de la sangre, sobre la bilis, y sobre el metabolismo ácido.

Doisy recibió distinciones de las Universidades de Yale, Washington, Chicago, Illinois, St. Louis, Central College; *Gustavus Adolphus College*, y de las Universidades de París. En 1932 y 1935 fue miembro del Comité para la normalización de las hormonas sexuales de la Liga (o Sociedad) de Naciones, presidente de la *American Society of Biological Chemists* entre 1943 y 1945, de la *Endocrine Society* entre 1949 – 1950, así como de la *Experimental Biology and Medicine* entre 1949 y 1951.

En 1955 el departamento donde trabajaba fue bautizado con su nombre. Fue emérito de la *St. Louis University* entre 1965 y el año de su fallecimiento, en 1986.

Doisy, tras la muerte de su primera mujer en 1964, un año después, se casó con una de las mejores amigas de su esposa Alice: Margaret McCormick. Murió en St. Louis, Missouri, el 23 de octubre de 1986.

Bibliografía

- Aschheim, S; Zondek, B. Das Hormon des Hypophysenvorderlappens. II. *Klinische Wochenschrift*, Berlin, 1928, 7: 831-835.
- Aschheim, S; Zondek, B. Die Schwangerschaftsdiagnose aus dem Harn durch Nachweis des Hypophysenvorderlappenhormons. *Klinische Wochenschrift*, Berlin, 1928, 7: 8-9, 1404-1411, 1453-1457.
- Dam, C. P. Cholesterinstoffwechsel in Hühnereiern und Hühnchen. *Biochem. Z.*, 1912, 9, 215, 475-92.
- Doisy, E.A. An autobiography. En: *Annual Review of Biochemistry*, 1976, 45: 1-12.
- Edward A. Doisy – Biography, Nobelprize.org. <http://nobelprize.org/medicine/laureates/1943/doisy-bio.html> Consultado en octubre de 2005.
- Grande Covián, F. Bioquímica. En: Laín Entralgo, P. (Dir.), *Historia Universal de la Medicina*. Barcelona, Salvat, vol. 7, pp. 57-66, 1975.
- Rothschuh, K.E. Fisiología. En: Laín Entralgo, P. (Dir.), *Historia Universal de la Medicina*. Barcelona, Salvat, vol. 7, pp. 67-70, 1975.