

A.S.
DSC
1946-1947

UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

DISCURSO

LEIDO EN LA APERTURA

DEL CURSO ACADÉMICO DE 1946 a 1947

POR EL

Dr. D. Fernando Calvet Prats

Catedrático de Química Orgánica

SOBRE EL TEMA

«LA PRESENCIA DE UNA NUEVA PROTEINASA
DE ORIGEN PANCREÁTICO EN MUESTRAS
COMERCIALES DE INSULINA.»



S. AGUIRRE, IMPRESOR
CALLE DEL GENERAL ÁLVAREZ DE CASTRO, 38

MADRID

1946

ACTA SALMANTICENSIA

(COLECCION DE MEMORIAS Y TRABAJOS CIENTIFICOS
EDITADOS POR LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA)

SERIE DE FILOSOFIA Y LETRAS

- Tomo I, núm. 1. ANTONIO GARCÍA BOLZA: *Una fundación de Monterey, el convento de Madres Agustinas de Salamanca*, 32 páginas, 11 láminas, 1945. 8 ptas.
- Tomo I, núm. 2. RAFFAELLO VIOLA: *La poesia italiana di Giovanni Pascoli*, 72 páginas, 1 lámina, 1945. 10 ptas.
- Tomo I, núm. 3. JULIO CARO BAROJA: *Materiales para una historia de la lengua vasca en su relación con la latina*. A punto de aparecer.
- Tomo II, núm. 1. P. CÉSAR MORÁN: *Reseña histórico-artística de la provincia de Salamanca*. Prólogo de Blas Taracena, 169 páginas, XXVI láminas, 1946. 30 ptas.

SERIE DE CIENCIAS

SECCIÓN DE MATEMÁTICAS.

- I. GERMÁN ANCOCHEA: *Courbes algébriques sur corps fermés de caractéristique quelconque*, 40 páginas, 1946. 10 ptas.

Aparecerán próximamente:

ANTONIO I. FLORES: *On the n-body problems I*.

BARTEL L. VAN DER WAERDEN: *On the birational invariants of an algebraic variety*.

SERIE DE DERECHO

- Tomo I, núm. 1. TEODORO ANDRÉS MARCOS: *Vitoria y Carlos V en la soberanía hispano-americana*, 246 páginas, 2.^a edición, 1946. 30 ptas.

SERIE DE MEDICINA

- Tomo I, núm. 1. TOMÁS DE JUAN RODRÍGUEZ: *La tromboflebitis en la angina de Ludwig*, 70 páginas, 3 láminas, 1945. 10 ptas.
- Tomo I, núm. 2. JOSEPH SCHUMACHER: *Die "Theoria" der griechisch-antiken Denker und ihr Einfluss auf die spätere Forschung*, 16 páginas, 1945. 3 ptas.
- Tomo I, núm. 3. JULIO PELÁEZ REDONDO: *Patología funcional del sistema linfático*, 84 páginas, 1946. 14 ptas.

Concesionario de venta: Espasa-Calpe, S. A.

UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

DISCURSO

LEIDO EN LA APERTURA

DEL CURSO ACADÉMICO DE 1946 a 1947

Dr. D. Francisco Cabal Prats

«LA PRESENCIA DE UNA NUEVA PROTEINASA
DE ORIGEN PANCREÁTICO EN MUESTRAS
COMERCIALES DE INSULINA»

«LA PRESENCIA DE UNA NUEVA PROTEINASA
DE ORIGEN PANCREÁTICO EN MUESTRAS
COMERCIALES DE INSULINA»



W. VANDERKAM, EDITOR
CALLE DEL MARqués, 21 - 40100 SALAMANCA, SP.

1946

1947

UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

DISCURSO

Magnífico
LEIDO EN LA APERTURA
DEL CURSO ACADEMICO DE 1946 a 1947

POR EL

Dr. D. Fernando Calvet Prats

Catedrático de Química Orgánica

SOBRE EL TEMA

«LA PRESENCIA DE UNA NUEVA PROTEINASA
DE ORIGEN PANCREATICO EN MUESTRAS
COMERCIALES DE INSULINA»



S. AGUIRRE, IMPRESOR

CALLE DEL GENERAL ÁLVAREZ DE CASTRO, 38

MADRID

1946

Magnífico y Excmo. Sr.

Señoras y Señores:

El honor que hoy me corresponde de leer este Discurso de Apertura del nuevo Curso Académico, que comienza en nuestra Universidad salmantina, me colma de extraordinaria satisfacción íntima, que sólo se ve ligeramente turbada ante la perplejidad de acertar en la elección de un tema apropiado.

Es la segunda vez, en mi carrera académica, que he tenido que confeccionar una oración inaugural, y como en la primera, que fué en Santiago de Compostela, en vez de hacer una exposición doctrinal, o de resumen de actualidad sobre algún progreso científico concreto, he preferido ofrecer los primicias de un modesto trabajo original de investigación inédito, aprovechando así esta oportunidad para dar publicidad a unos primeros resultados que considero interesantes y que es de esperar se vean pronto sancionados por otros más definitivos.

Me es grato hacer constar la asidua asistencia experimental que en todo momento me ha prestado D. Faustino Cerdón, antiguo alumno y colaborador mío, y sólo me queda esperar fundadamente de vuestra comprensión y benevolencia que sabréis apreciar esta sincera exposición de unos hechos

experimentales, que procuraré hacer con la mayor sobriedad y en forma escueta, y que sabréis perdonar el inevitable tecnicismo y la especialización del tema elegido.

La insulina es un principio activo de preciado valor terapéutico que se extrae de las glándulas pancreáticas del ganado vacuno y de cerda. Es una hormona dotada de la valiosa propiedad de rebajar la glucemia o nivel de azúcar sanguíneo, del hombre a quien se inyecte. El paciente diabético tiene que administrarse ese producto de modo periódico y frecuente, para rebajar la elevada concentración de glucosa de su sangre, y necesita de la insulina de modo indispensable para poder continuar viviendo. Durante varios de los últimos años, hemos sufrido en nuestro país una extraordinaria escasez de este valioso preparado, y entonces más que nunca se comprendió la importancia vital de poder mantener los escasos stocks disponibles, en estado de perfecta conservación y de máxima actividad.

La actividad de un preparado de insulina se mide y expresa en unas unidades biológicas convencionales, que por ser aceptadas universalmente se denominan unidades internacionales, U. I. La valoración de una muestra se efectúa observando la respuesta comparativa obtenida (descenso de glucemia) cuando se inyecta una determinada cantidad de la misma a una serie de conejos.

Hace ya unos cuatro años que nosotros observamos, que las muestras comerciales de insulina amorfa, de origen y procedimientos de fabricación diversos, una vez disueltas en agua presentan muy distintas estabilidades. Mientras que algunas de ellas, después de meses de almacenaje, conservan prácticamente su actividad biológica y terapéutica iniciales, otras, en cambio, se inactivan considerablemente en el transcurso de breves días. El control farmacológico cuidadoso efectuado por nosotros con diversas muestras de la hormona, a través de determinados períodos de tiempo, nos hizo sospechar de la presencia de un encima o fermento, que, impurificando en distintas proporciones las distintas insulinas, pudiera, al provocar su hidrólisis, ser el responsable del fenómeno de inactivación observado.

Comenzamos nuestro estudio investigando la presencia

de tripsina, proteinasa de origen pancreático, que bien podría contaminar las muestras de insulina; pero los resultados obtenidos demostraron su total ausencia. A continuación se investigó la catepsina de Anson (Anson, 1937), aunque también con resultado negativo.

Sin embargo, al examinar unas muestras de insulina siguiendo la técnica de Linderström-Lang (Holter, 1931; Holter, Linderström-Lang y Brönniche-Funder, 1932), se obtuvo una respuesta afirmativa. El examen ulterior de diversas muestras de insulina confirmó de modo indudable este resultado, en mayor o menor grado, según la muestra estudiada. Usando caseína como sustrato, pudo ponerse de manifiesto que el encima tiene un pH óptimo comprendido entre 2,5 y 3,5, y que se inactiva por completo calentándolo a 87° C. durante treinta minutos. El fermento difiere fundamentalmente de la pepsina en que es perfectamente alcali-estable, puesto que no acusa pérdida de su actividad después de mantenerlo dos horas a pH 7,8. Aunque también hidrolisa a la gelatina y desde luego a la insulina, su mejor sustrato es la caseína. Al igual que la gelatinasa de Schäffner (Schäffner y Truelle, 1943), carece de acción sobre la ovoalbúmina, pero difiere de dicho fermento en que no hidrolisa la clupeína, ni se activa por la cisteína, ni tampoco se inhibe por el ácido iodacético.

Por tanto, parece tratarse de un fermento nuevo, no descrito en la bibliografía hasta el presente, y por su acción sobre la insulina que es la que ha provocado su conocimiento, nosotros, provisionalmente, proponemos denominarlo "insulinasa".

La insulina pura, cristalizada y las muestras de la hormona amorfa que no contienen el encima se conservan bien

en disolución a la temperatura ambiente. Por el contrario, no hemos podido encontrar correspondencia entre inestabilidad y actividad proteolítica de las muestras. Incluso existen insulinas que se caracterizan por poseer un buen grado de conservación, a pesar de contener una elevada proporción de la proteinasa. Pudiera explicarse este hecho admitiendo que la insulina amorfa está impurificada por ciertas proteínas acompañantes, que actuando como substratos concurrentes, protegen a la hormona de la hidrólisis. Apoya esta opinión el que añadiendo una pequeña cantidad de caseína a una disolución inestable de insulina, aumente considerablemente, según hemos podido demostrar, su tiempo de conservación con máxima actividad. La importancia práctica de este hecho experimental es tan relevante, que no es necesario subrayarla.

Actualmente proseguimos nuestras investigaciones para extraer, purificar y, a ser posible, aislar la "insulinasa" del tejido pancreático, en el cual ya hemos podido demostrar directamente su presencia.

DESCRIPCION DE LOS EXPERIMENTOS

ACTIVIDAD PROTEOLÍTICA INHERENTE A UNA INSULINA IMPURA AMORFA

La determinación de la actividad proteolítica de las muestras de insulina se hizo siguiendo la técnica de Holter (1931, 1932), en la que se utiliza caseína como substrato y se efectúa la digestión a pH 2,3. Este pH nos interesaba de modo especial por ser precisamente el de las disoluciones comerciales de la hormona, preparadas con fines terapéu-

ticos, cuya inactivación con el tiempo fué la observación inicial de este trabajo. Los grupos amino liberados se determinaron volumétricamente.

Substrato. 5,5 Gr. de caseína (Hammarsten) se humedecen con un poco de agua, se disuelven en 36 ml. de hidróxido sódico 0,1 N, diluyendo hasta 100 ml. con agua, 25 ml. de esta disolución de caseína se añaden al mismo volumen de ácido clorhídrico diluido (una mezcla de 8,5 ml. de HCl y 91,5 ml. de agua), agitando hasta redisolver la proteína coagulada; la disolución resulta así con un pH 2,3 aproximadamente.

Encima. 0,6 Gr. de la muestra de insulina se disuelven en 10 ml. de agua por la adición de las gotas de ácido clorhídrico necesarias para llevar a un pH aproximado de 2,3.

Mezcla 1. Substrato y encima. La disolución del encima se incorpora a 20 ml. de la disolución ácida de caseína, ajustando cuidadosamente el pH final a 2,3.

Mezcla 2. Mezcla en blanco. 10 ml. de agua se añaden a 20 ml. de la disolución ácida del substrato, ajustando el pH a 2,3.

La mezcla 1, que excede algo de los 30 ml., se distribuye en seis tubos de ensayo (5 ml. en cada uno): tres sirven como ceros y los otros tres como ensayos de digestión; con la mezcla en blanco se hace la misma distribución. Procediendo como se ha dicho, cada tubo contiene aproximadamente 0,1 gr. de insulina. La temperatura del termostato se mantiene a 39° y la digestión se prolonga durante diecisiete horas. Los grupos amino liberados se determinan volumétricamente con HCl alcohólico, 0,1 N y rojo de naftilo como indicador, siguiendo la conocida técnica de Linderström-Lang. A cada uno de los tubos cero se añaden inmediatamente 5 ml. de acetona; lo mismo se hace con los otros después de transcurridas las diecisiete horas de digestión. Luego se añaden a cada tubo 2 ml. de NaOH alcohólica 0,1 N y 5 gotas de la disolución alcohólica del indicador (al 0,1 por 100), y después de haber agitado bien se pasa la mezcla a un erlenmeyer de 125 ml. El ácido clorhídrico 0,1 N se deja caer lentamente desde una microbureta, hasta un tono rojo persistente; se añaden entonces al matraz 25 ml. de acetona, con lo que su contenido se vuelve otra vez amarillento. Con nueva adición de ácido se pone otra vez rojizo y después de incorporar otros 50 ml. de acetona y el consiguiente ácido, la mezcla se separa por filtración de su precipitado coposo (lávese el filtro con 5 ml. de acetona) y en el líquido claro se precisa cuidadosamente el momento exacto del viraje, operando a la luz del día y utilizando como testigo un frasco con cantidades análogas de indicador en agua tamponada al conveniente pH (4,8).

A continuación, como ejemplo, ordenamos los datos del experimento número 6 de la Tabla I:

Elementos 14, 15 y 16

MEZCLAS	TUBOS DE ENSAYO	ml de HCl alcohólico 0,1 N, gastados en la valoración			
		Por tubo	Prome- dios	Diferen- cias	Digestión
Núm. 1. Encima y substrato.	Sin tiempo de di- gestión	1,87	1,87	+ 0,175	+ 0,19
		1,87			
		1,865			
Diecisiete horas de digestión	2,07	2,045	- 0,015		
	2,05				
	2,02				
Núm. 2. En blanco: substrato sólo	Sin tiempo de di- gestión	1,845	1,85	- 0,015	
		1,86			
		1,84			
Diecisiete horas de digestión	1,855	1,835			
	1,83				
	1,82				

Exactitud del método.—Según las numerosas valoraciones así efectuadas, el error probable de la respuesta final de cada experimento es $\pm 0,0104$. Basta pues, con que la respuesta sea $+ 0,32 > 0,0104 \times 3$ para que signifique digestión con el 95,7 por 100 de probabilidades. Análogamente, las respuestas de dos experimentos indicarán de modo indudable actividades proteolíticas distintas si difieren al menos en 0,045 ml. de HCl 0,1 N.

TABLA I.

Actividad proteolítica de las diversas muestras de insulina examinadas:

Experimentos efectuados según descripción; 0,1 g de insulina por tubo			
Número	Insulinas	Unidades internacionales por mg.	Digestión expresada en ml de HCl 0,1 N; Tiempo diecisiete horas; temperatura 37°; pH 2,3; substrato caseína
1	Argentina núm. 10	18	0,04
2	— núm. 13	18	0,11
3	— núm. 17	18	0,105
4	— núm. X	18	0,35
5	Española M.-M.	—	0,13
6	— Z.-m.	12	0,19
7	— M.-c.	—	0,16
8	— M.-M.	—	0,05
9	— Z.-m.	14	0,025
10	— C.-f.	—	0,10
11	— M.-c.	18	0,17
12	Argentina núm. 15	18	0,05
13	— núm. 15 (digerida)	8	0,015
14	Brasileña núm. 26	5	0
15	— núm. 27	5	0
16	— núm. 28-29	5	0
17	Cristalizada pura	23	0
Pepsina en polvo (T. 40) 0,02 g por tubo			+ 0,29

Como se ve claramente en la Tabla I, la mayoría de las muestras de insulina amorfa examinadas, mostraron contener como impureza una proteinasa en proporciones tales que les comunicaba una actividad proteolítica comparable (1:5) con la de una pepsina comercial en polvo. Por otra parte, la insulina cristalizada pura no demostró ninguna acción digestiva sobre caseína. Pero lo mismo sucedió investigando las muestras, en cambio, muy impuras, de los experimentos 14, 15 y 16; nos explicamos este fenómeno consi-

derando que el método seguido para preparar estas insulinas comprende una autodigestión de cuarenta y ocho horas a 40°, que inactiva probablemente al fermento. Cuando la muestra número 12 se autodigirió de modo semejante, se observó la pérdida de su actividad proteolítica (experimento núm. 13): de la autodigestión se recuperó en peso el 65 por 100 del producto, pero la actividad hormonal experimentó una pérdida mucho mayor (insulina destruída por la digestión), pues aunque la caseína parece ser el mejor substrato, la insulina sufre naturalmente los efectos de la proteinasa (véase Tabla II).

Parecía lógico esperar que se conservaran tanto mejor las muestras, cuanto más puras fueran; sin embargo, con la excepción de la insulina cristalizada pura, esto no es cierto siempre. Existen muestras de la hormona más bien ricas, que se conservan muy mal (la núm. 4, con elevada actividad proteolítica, se inactiva en disolución muy rápidamente: en unas ciento cincuenta horas perdió más del 60 por 100 de la actividad hipoglucemiante inicial); en cambio, ciertas muestras con pocas unidades internacionales y que contienen una fuerte proporción del fermento, poseen una estabilidad imprevista. En este último caso puede suponerse que entre las proteínas que impurifican a la hormona alguna funciona como substrato concurrente, el cual, sufriendo preferentemente la acción del encima, protege a la insulina de la hidrólisis. Hemos podido mostrar que, de hecho, cuando se añade caseína (substrato concurrente) a una insulina inestable, su conservabilidad aumenta: una disolución con 40 U. I. por mol. de la muestra número 12, a pH 2,3, con el 0,3 por 100 de tricresol, pierde el 30 por 100 de su actividad biológica original después de los quince días de mantenida a la temperatura del laboratorio. Un experimento paralelo, pero efec-

tuado con la previa adición a la disolución de un 0,2 por 100 de caseína, demuestra la conservación del 90 por 100 de la actividad inicial a las seis semanas.

PROPIEDADES DEL ENCI MA

La insulina utilizada en los experimentos siguientes fué la número 11 de la Tabla I. En cada tubo, 0,1 gr. de insulina y 0,9 gr. de substrato; pH 2,5; tiempo de digestión, diecisiete horas, y temperatura del termostato, 39°.

I. *Substratos específicos.*

TABLA II.

Substrato.	ml. de HCl 0,1 N.
Caseína	0,23
Gelatina	0,11
Insulina	0,09
Ovoalbúmina	0,03
Clupeína	0,—

Los resultados de esta tabla muestran que la caseína es, sin duda, el mejor substrato de los ensayados, pero que también el fermento hidrolisa a la gelatina e insulina. En cambio, parece que no posee poder digestivo sobre la ovoalbúmina o la clupeína.

Obtuvimos un resultado completamente negativo utilizando hemoglobina como substrato y trabajando a pH 3,5,

siguiendo la técnica de Anson (1937), para investigar la caseína, fundada en una reacción coloreada del triptofano.

2. pH óptimo.

TABLA III.

Substrato.	pH	ml. de HCl 0,1 N.
Caseína	1,5	0,—
—	2,3	0,17
—	2,5	0,23
—	2,8	0,22
—	3,5	0,22
—	8,9	0,—
Gelatina	2,5	0,11
—	4,5	0,—

El fermento parece tener, con caseína o gelatina como substrato, su pH óptimo comprendido entre 2,5 y 3,5.

3. Termolabilidad.

El fermento se inactiva por completo calentándolo treinta minutos a 87°.

4. Alkali-estabilidad.

La actividad hidrolítica del encima se mantiene íntegramente después de mantenido dos horas a pH 7,8.

5. Activadores e inhibidores.

TABLA IV.

Substrato.	Activador o inhibidor por tubo.	ml. de HCl 0,1 N.
Caseína	—	0,23
—	Sulfato de cobre, 2 mg.	0,29
—	Iodacético, 1 mg.	0,25

TABLA V.

Insulina: muestra número 10 de la Tabla I.

Substrato.	Activador por tubo.	ml. de HCl 0,1 N.
Caseína	—	0,10
—	Cisteína, 1,2 mg.	0,09

Parece ser que el encima acusa una ligera activación por sulfato de cobre; la cisteína no lo activa, ni lo inhibe el iodacético.

Tampoco lo activa la cisteína usando gelatina como sustrato y dirigiendo a pH 4,5.

A pH 8,9 el encima no manifestó ninguna actividad, ni en presencia de enteroquinasa, al emplear el método de Willstätter para valorar tripsina (Willstätter y colaboradores, 1926).

DISCUSIÓN

De lo dicho resulta claramente que el encima descrito difiere de la pepsina en el pH óptimo, en ser estable en me-

dio alcalino y en no digerir a la ovoalbúmina. También se diferencia de la catepsina de Anson, puesto que no actúa sobre la hemoglobina ni sobre la ovoalbúmina.

Tampoco puede identificarse con la gelatinasa de Schäffner (1943), de la que se distingue por: *a*) su pH óptimo (2,5-3,5, mientras que la gelatinasa lo tiene a 4,5); *b*) por no hidrolisar a la cupleína; *c*) por no ser activable por cisteína ni inhibible por ácido iodacético; y *d*) por ser alcali-estable.

El fermento que hemos encontrado en varias muestras de insulina amorfa y que es el responsable de la inactivación de la hormona cuando está disuelta, parece ser, en conclusión, una proteinasa procedente probablemente del interior de las células del tejido pancreático. Nos proponemos aislarla o concentrarla partiendo de la glándula.

SUMARIO

Algunas muestras comerciales de insulina amorfa contienen en diversas proporciones una proteinasa que hidrolisa la insulina, inactivando, por consiguiente, a la hormona. El encima, de procedencia pancreática, difiere de la tripsina y de la pepsina, no habiéndosela podido identificar tampoco con la capticina de Anson ni con la gelatinasa de Schäffner; como no hemos hallado ninguna descripción de un fermento similar en la limitada literatura a nuestro alcance, creemos que se trata de un fermento nuevo, y proponemos denominarlo "insulinasa".

HE DICHO.

BIBLIOGRAFÍA

- ANSON (1937): *J. Gen. Physiol. (Am.)*, 20, 565.
— (1938): *J. Gen. Physiol. (Am.)*, 22, 79.
HOLTER (1931): *Z. Physiol. Chem.*, 196, 1.
HOLTER, LINDERSTRÖM-LANG & BRÖNNICHE-FUNDER (1932): *Z. Physiol. Chem.*, 206, 85.
SCHÄFFNER & TRUELLE (1943): *Biochem. Z.*, 391.
WILLSTÄTTER, WALDSCHMIDT-LEITZ, DUÑAITURRIA & KÜNSTER (1926): *Z. Physiol. Chem.*, 161, 190.

PUBLICACIONES DEL COLEGIO DE ESTUDIOS
DE LA
UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

THESES BY SPANISH NATIONALIST WRITERS IN 1934

I. ANTONIO TARRADELLA, "El problema de la cultura en España"
Barcelona, 1934. 120 pags.

II. J. GARCIA Y GARCIA, "El problema de la cultura en España"

I. J. GARCIA Y GARCIA, "El problema de la cultura en España"
Barcelona, 1934. 120 pags.

II. J. GARCIA Y GARCIA, "El problema de la cultura en España"
Barcelona, 1934. 120 pags.

SE TERMINÓ DE IMPRIMIR ESTE DISCURSO EN
LA IMPRENTA DE S. AGUIRRE, CALLE DEL
GENERAL ÁLVAREZ DE CASTRO, 38, MADRID,
EL DÍA 20 DE SEPTIEMBRE DE 1946.

b 13521536

UNIVERSIDAD DE SALAMANCA



6404241686

i15855363

PUBLICACIONES DEL COLEGIO TRILINGÜE
DE LA
UNIVERSIDAD DE SALAMANCA
(DEL CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS)

THESES ET STUDIA PHILOLOGICA SALMATICENSIA

- I. ALVARO D'ORS PÉREZ-PEIX: *Presupuestos críticos para el estudio del Derecho romano*, 1943. 15 ptas.

TESIS Y ESTUDIOS SALMANTINOS

- I. LORENZO GONZÁLEZ IGLESIAS: *La casa albercana*, 1945. 20 ptas.
II. CARLOS CLAVERÍA: *Cinco estudios de literatura española moderna*, 1945. 14 ptas.

De venta: Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Sección de Publicaciones. Duque de Medinaceli, 4, Madrid.

OTRAS PUBLICACIONES
DE LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

DISCURSOS DE APERTURA DE CURSO

- 1941-42. J. M. RAMOS LOSCERTALES: *El primer ataque de Roma contra Celtiberia* (agotado).
1942-43. FERNANDO GALÁN: *Exposición y crítica de las "Teorías de la determinación del sexo"* (agotado).
1943-44. SERAFÍN PIERNA CATALÁN: *Los grandes conflictos sociales y su repercusión en el estado sanitario de los pueblos*.
1944-45. JOSÉ ANTÓN ONECA: *La prevención general y la prevención especial en la teoría de la pena*.
1945-46. ANGEL DE ARAIZ: *Salamanca, camino de Oriente*.

TESIS DOCTORALES

- S. CASTILLO HERNÁNDEZ: *Alfonso de Castro y el problema de las leyes penales*, 1941. 3,50 ptas.
J. PELÁEZ REDONDO: *Esplenectomía en enfermedades de la sangre*, 1943. 12 ptas.
A. ALVAREZ MORUJO: *El ligamento triangular en la mecánica de la articulación del carpo*, 1946. 10 ptas.

VARIA

- SIMÓN GARCÍA: *Compendio de arquitectura y simetría de los templos (año 1681)*, edición de J. Camón, 1941. 10 ptas.
ANGEL DE ARAIZ: *La casa y la vida en la antigua Salamanca*, 2.ª edición, 1942. 6 ptas.
A. PELÁEZ DE LAS HERAS: *El delito continuado*, 1942. 5 ptas.

Concesionario de venta: Espasa-Calpe, S. A.

El dic. corresp. al curso 1947-48
"Lo cómico y otros valores a fines
en el Quijote" por D. César Real
de la Riva, no se ha publicado
