

La Serie Universitaria de la Fundación Juan March presenta resúmenes, realizados por el propio autor, de algunos estudios e investigaciones llevados a cabo por los becarios de la Fundación y aprobados por los Asesores Secretarios de los distintos Departamentos.

El texto íntegro de las Memorias correspondientes se encuentra en la Biblioteca de la Fundación (Castelló, 77. Madrid-6).

La lista completa de los trabajos aprobados se presenta, en forma de fichas, en los Cuadernos Bibliográficos que publica la Fundación Juan March.

*Los trabajos publicados en Serie Universitaria abarcan las siguientes especialidades:
Arquitectura y Urbanismo; Artes Plásticas;
Biología; Ciencias Agrarias; Ciencias Sociales;
Comunicación Social; Derecho; Economía; Filosofía;
Física; Geología; Historia; Ingeniería;
Literatura y Filología; Matemáticas; Medicina,
Farmacia y Veterinaria; Música; Química; Teología.
A ellas corresponden los colores de la cubierta.*

Edición no venal de 300 ejemplares
que se reparte gratuitamente a investigadores,
Bibliotecas y Centros especializados de toda España.

Fundación Juan March



FJM-Uni 103-Gui
Estudio morfométrico, óptico y ultrae
Guix Pericas, Manuel.
1031555



Fundación Juan March (Madrid)

SERIE UNIVERSITARIA



Fundación Juan March

Manuel Guix Pericas

Estudio morfométrico,
óptico y ultraestructural
de los inmunocitos en la
enfermedad celíaca

103 Estudio morfométrico, óptico y ultraestructural de los inmunocitos en la enfermedad celíaca/Manuel Guix Pericas

FJM
Uni-
103
Gui
103

Fundación Juan March

Serie Universitaria

103



Manuel Guix Pericas

Estudio morfométrico,
óptico y ultraestructural
de los inmunocitos en la
enfermedad celíaca



Fundación Juan March
Castelló, 77. Telef. 225 44 55
Madrid - 6

Fundación Juan March (Madrid)

*Este trabajo fue realizado con una Beca de la
Convocatoria de Extranjero, 1976, individual.
Departamento de MEDICINA, FARMACIA Y VETERINARIA.
Centro de trabajo: Departamento de Anatomía Patológica.
The Flinders University of South Australia. Bedford Park.*

Depósito Legal: M-32621 - 1979

I.S.B.N. 84 - 7075 - 142 - 5.

Ibérica, Tarragona, 34 - Madrid - 7.

Impresión: Gráficas Ibérica, Tarragona, 34 - Madrid - 7.

I N D I C E

| | <u>Página</u> |
|--|---------------|
| 1. INTRODUCCION | 1 |
| 2. MATERIAL Y METODOS | 4 |
| 3. METODO MORFOMETRICO ULTRAESTRUCTURAL | 10 |
| A) Medición de organelos | 10 |
| B) Activación de las células plasmáticas | 15 |
| C) Proporciones | 16 |
| 4. METODO MORFOMETRICO DE MICROSCOPIA OPTICA | 16 |
| 5. ANALISIS MATEMATICO ESTADISTICO | 20 |
| A) Cociente de la suma acumulativa de valores | 20 |
| 6. RESULTADOS | 22 |
| 6.1. Estudio ultraestructural | 22 |
| 6.2. Estudio óptico | 29 |
| 7. DISCUSION | 33 |
| 7.1. Estudio morfométrico ultraestructural | 33 |
| 7.2. Estudio morfométrico con microscopía óptica | 38 |
| 7.3. Cronología de la reacción inmunológica | 41 |
| 8. BIBLIOGRAFIA | 45 |

La Fundación Juan March no se solidariza necesariamente con las opiniones de los autores cuyas obras publica.

INTRODUCCION

Desde el punto de vista histórico (1) hay tres fechas importantes a partir de las cuales se empieza a comprender la enfermedad celíaca. En 1888 (2) se reconoce la enfermedad celíaca como una entidad clínica; en 1950 (3) se descubre que el trigo está íntimamente relacionado con la aparición de la enfermedad, y hace unos años se demostró que la mucosa yeyunal era anómala en los enfermos celíacos que ingerían productos del trigo (4,5).

Mediante microscopía óptica, la mucosa yeyunal de los enfermos celíacos no tratados muestra una pérdida total o parcial de las vellosidades. Las células epiteliales de la zona superficial de la mucosa están aplanadas mostrando pseudoestratificación de núcleos y se aprecia vacuolización citoplasmática. A nivel de las criptas, las células epiteliales muestran un aspecto normal pero hay un aumento en el número de mitosis.

Numerosos estudios de microscopía electró-

nica han detallado ampliamente las anomalías ultraestructurales del enterocito de la mucosa yeyunal de la enfermedad celíaca (6-17).

Mediante la práctica de más estudios morfológicos de los cambios en las células epiteliales de la enfermedad celíaca difícilmente se aportarán datos útiles para descubrir la etiopatogenia de la enfermedad. Los cambios finales que se observen en la mucosa anómala se deben a la lesión celular, al aumento de la producción celular a nivel de criptas y al aumento de la pérdida de células epiteliales de la superficie de la mucosa. Simplemente estamos observando un resultado inespecífico de la lesión del enterocito. Sin embargo, además de la lesión epitelial hay también cambios importantes a nivel de las células inmunocompetentes, especialmente a nivel de la lámina propia de la mucosa yeyunal. Estos cambios incluyen un aumento en el número de inmunocitos y variación en la cantidad de inmunoglobulinas secretada por alguna de estas células.

Un detallado estudio, tanto cualitativo como cuantitativo, de las células incompetentes de la mucosa yeyunal en la enfermedad celíaca puede aportar nuevos datos sobre la patogenia de esta enfermedad, ya que hay datos suficientes que demuestran la existencia de una reacción inmunológica contra el gluten de la enfermedad celíaca. Esto se ha demostrado mediante los siguientes hallazgos:

- 1.- En enfermos celíacos se han identificado anticuerpos antigluten (18-19).
- 2.- En esta enfermedad son muy comunes las anomalías en la función linfocitaria y en las inmunoglobulinas circulantes (19-22).
- 3.- En la enfermedad celíaca hay una gran incidencia de enfermedades linfoproliferativas y otras neoplasias (23).
- 4.- En la enfermedad celíaca se han identificado anticuerpos antigliadina (24-25).
- 5.- La administración de corticoides mejora en parte las lesiones de la mucosa (26-27).

Con la idea de aportar mayor información sobre la reacción o reacciones inmunológicas presentes en la enfermedad celíaca, se ha realizado este trabajo morfométrico de microscopía óptica y ultraestructural de los inmunocitos en dicha enfermedad.

MATERIAL Y METODOS

Con la intención de catalogar los diferentes componentes de la población de células inmunocompetentes en la mucosa yeyunal de los enfermos celíacos, se examinaron biopsias de mucosa yeyunal normal y de mucosa yeyunal pertenecientes a enfermos celíacos.

Para obtener resultados básicos comparativos, se estudió una muestra de sangre periférica normal, un ganglio linfático normal y mucosa yeyunal normal. El tejido perteneciente a los enfermos se clasificó en tres grupos:

- a) Biopsias yeyunales de enfermos no tratados.
- b) Biopsias yeyunales de enfermos celíacos después de un año de tratamiento con

dieta sin gluten.

- c) Biopsias yeyunales de enfermos celíacos tratados 3, 10 y 24 horas después de la reintroducción de gluten.

Todas las biopsias yeyunales se tomaron con cápsula de Crosby después del ángulo de Treitz bajo control radioscópico.

En el estudio morfométrico ultraestructural para establecer criterios morfológicos se examinaron los siguientes tejidos:

- 1.- Células hemáticas normales: En una muestra de sangre normal se examinaron linfocitos, monocitos y polimorfonucleares.
- 2.- Ganglio linfático normal: Se examinaron linfocitos de un ganglio linfático normal. El ganglio fue extirpado debido a un diagnóstico de sospecha de toxoplasmosis. Se examinaron dos bloques distintos del mismo ganglio.
- 3.- Mucosa yeyunal normal: El material pertenecía a cuatro sujetos que fueron

investigados para descartar malabsorción. El aspecto microscópico de la mucosa yeyunal era normal. En cada caso se examinaron uno o dos bloques. En cada fragmento de tejido se estudiaron los linfocitos intraepiteliales ("teliolinfocitos"), linfocitos y células plasmáticas de la lámina propia.

- 4.- Mucosa yeyunal de enfermos celíacos no tratados: Se estudiaron tres casos distintos. Cada uno de ellos mostraba un daño severo de la mucosa, tanto a nivel de microscopio de disección como a nivel de microscopía óptica regular. El aspecto microscópico era el de mucosa plana con ausencia total de vellosidades. Se estudiaron uno o dos bloques en cada caso. Se examinaron las mismas series celulares que en el caso de la mucosa yeyunal normal. A este apartado se añadió un grupo de células plasmáticas pertenecientes a un cuarto caso que presentaba las

mismas características.

Así pues en la fase ultraestructural del estudio morfométrico se examinaron, 36 linfocitos de sangre periférica normal, 34 linfocitos de ganglio linfático normal, 148 teliolinfocitos, 145 linfocitos de la lámina propia, 14 linfocitos en transformación y 178 células plasmáticas.

Basados en la clasificación de las distintas series celulares con los resultados obtenidos en el estudio morfométrico ultraestructural, se obtuvieron los números relativos de las distintas series celulares estudiando el siguiente material:

- 1.- Mucosa yeyunal normal: Se examinaron los cuatro casos ya estudiados en el apartado anterior mas un quinto caso. Se examinó un mínimo de 9 campos ultraestructurales distintos en cada caso. La ampliación original del microscopio electrónico fue 833.
- 2.- Mucosa yeyunal de enfermos celíacos no tratados: Además de los tres casos ya estudiados, se examinaron tres casos

más de las mismas características.

Se empleó la misma técnica de medición.

- 3.- Biopsias de tres casos distintos de enfermos celíacos tratados a las 3, 10 y 24 horas después de la reintroducción de gluten en la dieta. En cada caso se comprobó que la histología de la mucosa yeyunal era normal antes de la reintroducción de gluten. Se utilizó la misma técnica.
- 4.- Mucosa yeyunal de enfermos celíacos tratados: Se estudiaron biopsias yeyunales de 4 enfermos tratados durante un año con dieta sin gluten. Se empleó la misma técnica de medición.

En todos los pacientes el diagnóstico de enfermedad celíaca se basó en datos clínicos y morfológicos:

- 1.- Esteatorrea.
- 2.- Atrofia subtotal de las vellosidades intestinales antes de que el enfermo fuera sometido a tratamiento.
- 3.- Mejoría clínica y morfológica después de una dieta sin gluten.
- 4.- Reparición de los síntomas clínicos

y anomalías morfológicas después de la reintroducción de gluten.

Las muestras biopsicas fueron procesadas mediante técnicas habituales de microscopía óptica y electrónica. El tejido fue examinado con un microscopio óptico Leitz SM LUX y con un microscopio electrónico Philips 201 C.

Método morfométrico ultraestructural.

A.- Medición de organelos.

Esta fase del estudio, se basa en el principio de Delesse (28) mediante el contaje de puntos y de intersecciones lineales.

En cada una de las células estudiadas (linfocitos y células plasmáticas) se han examinado los siguientes parámetros:

- diámetro celular
- área celular
- relación núcleo citoplasma (N/C)
- número de mitocondrias
- número de lisosomas
- longitud del retículo endoplásmico rugoso (L. RER)
- área del retículo endoplásmico rugoso (A. RER)
- relación entre L.RER/A.RER

Utilizando estas características ultraestructurales se clasificaron y cuantificaron los distintos tipos celulares en la mucosa yeyunal de los sujetos normales y de los enfermos celíacos.

Para la medición de áreas se utilizó una cuadrícula (fig.1) contando el número de esquinas que se situaban en el interior del parámetro a medir. Para obtener valores en micras cuadradas se multiplicó el número de esquinas por un factor de conversión (FC_1)

$$FC_1 = \frac{L^2 \times 10^6}{\text{Ampliación}}$$

(L = Longitud del lado de un cuadrado en mm.)

Para medir la longitud del retículo endoplásmico rugoso de los linfocitos se contabilizó el número de intersecciones del organelo con los lados de los cuadrados. El valor en micras se obtuvo multiplicando este número por un FC_2

$$FC_2 = \frac{l \times 10^3}{\text{Ampliación}} \cdot 2$$

(l = longitud del lado de un cuadrado en mm)

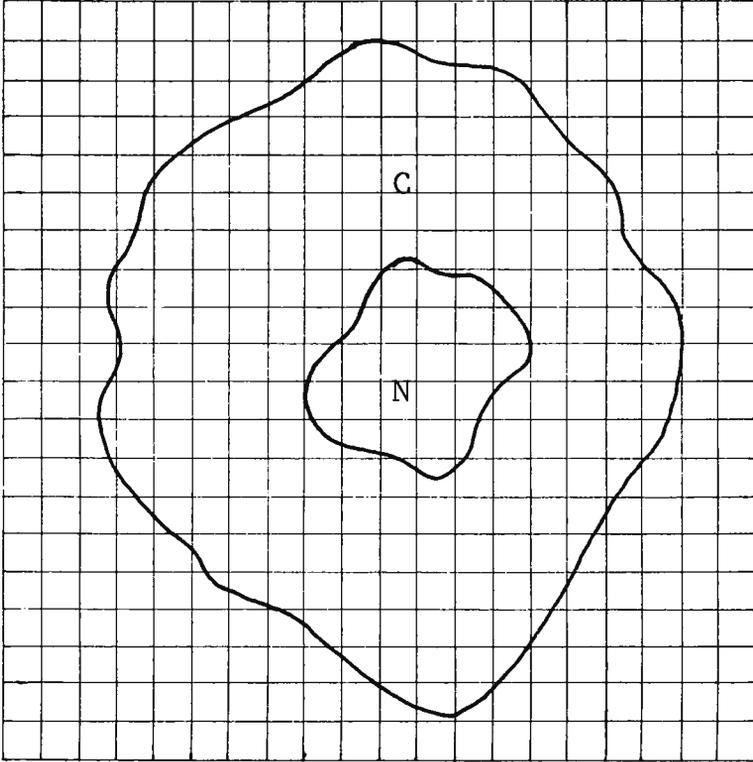


Fig.1. La medición de áreas se realizó contando el número de esquinas de los cuadrados que se sitúan en el interior del parámetro a medir.
(C = Citoplasma; N = Núcleo).

Para medir la longitud del retículo endoplásmico rugoso de las células plasmáticas se preparó una cuadrícula de líneas discontinuas (fig.2) de tal manera que los puntos finales de cada línea forman triángulos equiláteros con los dos puntos finales de las líneas adyacentes. La técnica consiste en contar el número de intersecciones de las líneas discontinuas con el RER. La longitud en micras se obtuvo de la siguiente manera:

$$\text{Longitud en micras} = \frac{I \times A \times 10^3}{\text{Ampliación}}$$

I = número de intersecciones de las líneas con el RER.

A = amplitud de la cuadrícula.

Los valores de los diámetros celulares se obtuvieron de la siguiente manera:

$$\text{Diamétero en micras} = \frac{V \times 10^3}{\text{Ampliación}}$$

V = longitud del diámetro fotografico en mm.

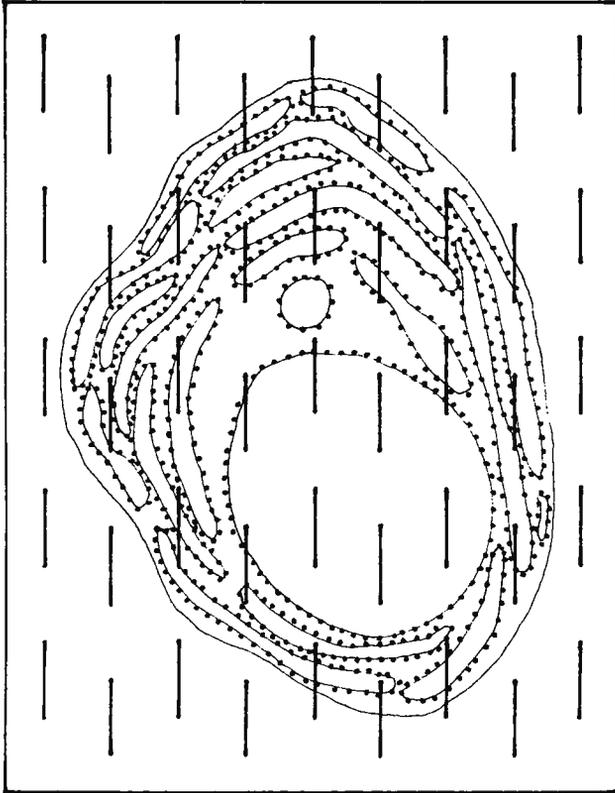


Fig.2. Para medir la longitud del RER de las células plasmáticas se cuenta el número de intersecciones de las líneas discontinuas con el RER.

(N= Núcleo; RER= Retículo endoplásmico rugoso).

Todas las mediciones se han realizado superponiendo al azar las cuadrículas sobre el material fotográfico de microscopía electrónica.

La ampliación fotográfica final se obtuvo multiplicando la ampliación del microscopio electrónico por 8 (cada negativo fue ampliado 8 veces).

De cada célula solo se estudió un plano de sección, cuyo requisito imprescindible era la presencia de núcleo.

B.- Activación de las células plasmáticas.

Para valorar la actividad de las células plasmáticas se tomó como índice la longitud del RER.

Se midieron un total de 445 células plasmáticas de los diferentes grupos de biopsias yeyunales; 100 células plasmáticas de sujetos normales, 78 de celíacos no tratados, 71 de celíacos tratados, 66 de enfermos 3 horas después de la introducción de gluten, 72 a las 10 horas y 58 a las 24 horas después.

Se consideró que una célula plasmática estaba activada cuando la longitud del RER era superior a la del valor promedio de las células plasmáticas de los sujetos normales mas una desviación estandard.

C.- Proporciones:

Para determinar la proporción de las distintas series celulares presentes en la lámina propia de la mucosa yeyunal, se estudiaron un número de 9 campos ultraestructurales por cada caso. Cada célula visible en la fotografía se contabilizó y clasificó. La ampliación original del microscopio electrónico fue de 833.

Método morfométrico de microscopía óptica.

Para calcular los números relativos de los diversos tipos de células en la lámina propia de la mucosa yeyunal, el número de teliolinfocitos, el área de la superficie epitelial y el volumen de la lámina propia se estableció un método con microscopía óptica.

En esta fase del estudio, todos los resultados se realizaron con una unidad de longitud de muscularis mucosa. Para ello se colocó en el ocular del microscopio una cuadrícula (fig.3) y se examinaron 7 campos distintos en cada caso.

La unidad de longitud de muscularis mucosa era aquélla porción de muscularis que era interceptada 5 veces por la línea quebrada de la cuadrícula. La superficie del epitelio se calculó contando el número de intersecciones de la línea quebrada con la membrana basal. El volumen de la lámina propia se calculó contando el número de puntos (puntos libres de las líneas cortas) situadas en su interior. El número total de células se obtuvo contando células situadas en la lámina propia correspondiente a la unidad de medida excluyendo polimorfonucleares, macrófagos, fibrocitos y células endoteliales. Así mismo se obtuvo el número de teliolinfocitos por unidad de medida.

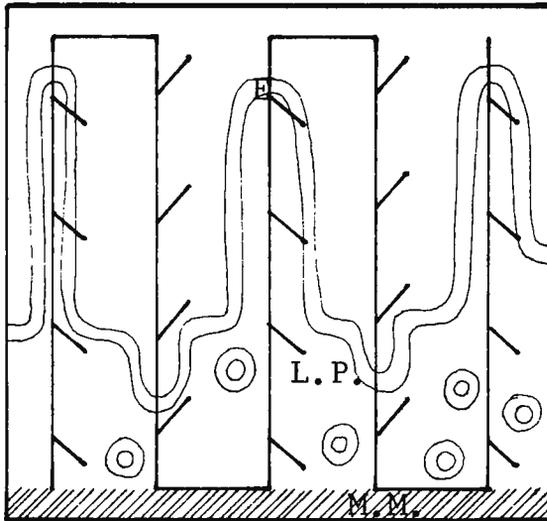


Fig.3. Retícula utilizada para el estudio morfométrico con microscopía óptica.

(E = Epitelio; L.P. = Lámina propia; M.M. = Muscularis mucosa).

Las distintas densidades de linfocitos y células plasmáticas se calcularon trasladando los resultados obtenidos en el estudio proporcional de microscopía electrónica al número total de células. Todo el estudio se practicó con el mismo número de aumentos microscópicos (x25).

ANALISIS MATEMATICO ESTADISTICO.

A.- Cociente de la suma acumulativa de valores.

Para averiguar el número de elementos a medir en cada parámetro (número de organelos número de células, número de campos microscópicos) se ha utilizado el cociente de la suma acumulativa de valores (29). Según este método el número de elementos a estudiar queda determinado cuando la pendiente de la gráfica se acerca a cero (Gráfica 1).

La representación matemática de este método es la siguiente:

$$\frac{X_1}{Y_1} + \frac{X_1 + X_2}{Y_1 + Y_2} + \dots + \frac{X_1 + X_2 + \dots + X_n}{Y_1 + Y_2 + \dots + Y_n}$$

B.- El método estadístico utilizado ha sido un análisis de variabilidad con los resultados de microscopía electrónica, y el Test de la "t" con los resultados de microscopía óptica.

Se consideró una diferencia estadísticamente significativa cuando $p < 0.05$. Ambos métodos han sido procesados mediante computador siguiendo el sistema SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) (30).

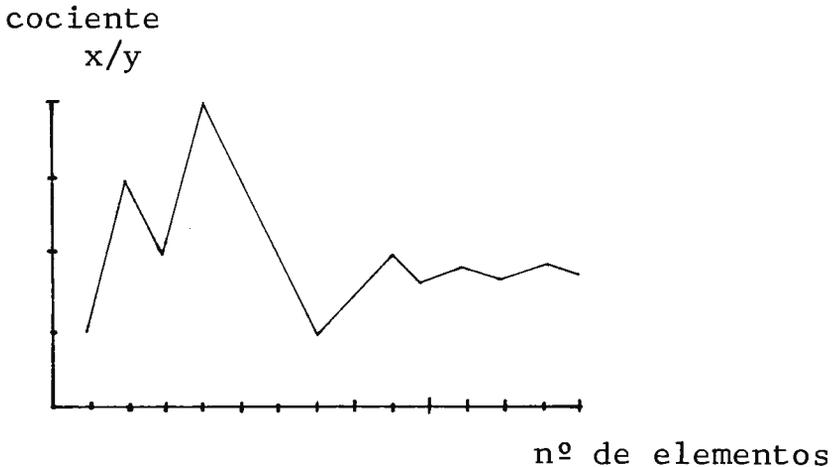


Gráfico 1.- Cociente de la suma acumulativa de valores. El número de elementos a medir queda determinado cuando la pendiente de la curva se aproxima a cero.

RESULTADOS

Estudio ultraestructural.

Los datos obtenidos en el estudio ultraestructural de los linfocitos en las distintas situaciones no mostró diferencias estadísticamente significativas entre ninguno de los parámetros.

Tabla I. No se ha evidenciado una correlación directa entre el diámetro o área celular y el número de organelos. Por otro lado el diámetro celular tampoco es un índice preciso en cuanto al tamaño de estas células, sobre todo cuando están situadas en tejidos sólidos y sometidas a compresiones por otras estructuras.

El estudio de las células plasmáticas mostró diferencias significativas entre los sujetos normales y los grupos de enfermos celíacos. Estas diferencias se detectaron a nivel de área celular, longitud y área del RER.

Estos tres parámetros fueron mayores en

las células plasmáticas de los enfermos celíacos.

Tabla II.

Tabla I. Relación de los valores promedio de cada uno de los parámetros de las distintas poblaciones de células linfocitarias.

(LH = Linfocito hemático; LG = Linfocito ganglionar; Tel = Teliolinfocito; LLP = Linfocito de la lamina propia).

| | LH | LG | Tel. | LLP |
|--------------------|-------|-------|-------|-------|
| Diametro celular | 6.079 | 6.731 | 7.191 | 6.856 |
| Area celular | 16.49 | 23.73 | 20.73 | 22.35 |
| Nº de mitocondrias | 6.667 | 6.059 | 5.591 | 5.353 |
| Nº de lisosomas | 2.111 | 1.029 | 1.296 | 1.447 |
| Longitud RER | 2.561 | 2.225 | 1.073 | 1.625 |
| N/C | 0.969 | 1.044 | 0.890 | 0.920 |

Los valores están expresados en micras, micras cuadradas y número de elementos.

Tabla II. Relación de los valores promedio de cada uno de los parámetros de las células plasmáticas en sujetos normales y enfermos celíacos no tratados.

| | Sujetos normales | E. celíacos |
|--------------------|------------------|-------------|
| Diámetro celular | 9.903 | 10.10 |
| Area celular | 39.21 | 49.35 |
| Nº de mitocondrias | 7.646 | 8.161 |
| Nº de lisosomas | 2.737 | 2.240 |
| Longitud RER | 41.89 | 56.38 |
| Area RER | 8.342 | 22.54 |
| A. RER/L. RER | 0.207 | 0.782 |
| N/C | 0.614 | 0.889 |

Los valores están expresados en micras, micras cuadradas y número de elementos.

En la lamina propia de la mucosa yeyunal de los enfermos celíacos se identificaron células que se catalogaron de linfocitos en transformación. Estas células no se encontraron en los sujetos normales y se caracterizaban por presentar un gran área celular, núcleo grande con uno o dos nucléolos prominentes, escasos organelos citoplasmáticos y un RER bien desarrollado. Estas células no producían colágeno ni presentaban fagosomas citoplasmáticos. (Tabla III).

Entre los linfocitos en transformación y los no transformados se encontraron diferencias significativas en el área y diámetro celular, relación núcleo citoplasma y longitud del RER.

También se encontraron diferencias significativas al comparar los linfocitos en transformación con las células plasmáticas en el número de mitocondrias y longitud del RER.

Los resultados obtenidos en cuanto a la actividad de las células plasmáticas demostraron que en los sujetos normales el 85%

Tabla III. Relación de los valores promedios de los linfocitos en transformación de los enfermos celíacos

| | |
|--------------------|-------|
| Diámetro celular | 10.22 |
| Area celular | 49.48 |
| Nº de mitocondrias | 4.286 |
| Nº de lisosomas | 1.643 |
| Longitud del RER | 14.23 |
| N/C | 1.678 |

Los valores están expresados en micras, micras cuadradas y número de elementos.

de las células estaban "inactivadas". En los pacientes celíacos no tratados el 53% y el 55% en los pacientes Tratados. A las 3 y 10 horas después de la readministración de gluten el 62% estaban inactivadas y a las 24 horas el 47%.

Atendiendo a la clasificación y cuantificación de las distintas series celulares mediante la microscopía electrónica se pudo obtener la densidad de estas células en la mucosa yeyunal. En los sujetos normales las proporciones de linfocitos y células plasmáticas fueron del 51 y 49% respectivamente. No se evidenciaron linfocitos en transformación. En los enfermos celíacos no tratados se evidenció un 14% de linfocitos, un 83% de células plasmáticas y un 3% de linfocitos en transformación. En los enfermos tratados se encontró un 28% de linfocitos, un 71.7% de células plasmáticas y un 0.3% de linfocitos en transformación. Las biopsias tomadas a las 3, 10 y 24 horas después de la reintroducción de gluten las proporciones de linfocitos oscilaron entre el 31%

y el 36%, las de células plasmáticas entre el 61% y 66% y las de los linfocitos en transformación entre el 1% y 3%. Las células epiteliales a las 3 horas después de la administración de gluten no mostraron cambios ultraestructurales.

Estudio óptico

El análisis estadístico demostró una diferencia en el recuento total de células en la lámina propia de la mucosa yeyunal entre los sujetos normales y los enfermos celíacos tratados, no tratados y a las 10 y 24 horas después de la reintroducción de gluten. El número relativo de linfocitos demostró diferencias significativas entre los sujetos normales y los enfermos no tratados. Los resultados obtenidos con los linfocitos en transformación y las células plasmáticas mostraron diferencias significativas entre los sujetos normales y todos los grupos de enfermos celíacos. (Tabla IV).

En relación a la superficie de la mucosa yeyunal (Tabla IV) se encontraron diferencias significativas entre los sujetos normales y los enfermos celíacos no tratados, tratados y a las 24 horas después de la reintroducción de gluten. (Tabla V).

En relación al volumen de la lámina propia también se encontraron diferencias significativas entre los sujetos normales y los enfermos no tratados ,enfermos tratados y a las 10 horas después de la administración de gluten.(Tabla V).

Tabla IV. Relación de los valores promedio de los números relativos del número de telio-linfocitos (Tel), del número total de células (NTC), de los linfocitos (L), linfocitos en transformación (LTr) y de las células plasmáticas en la mucosa yeyunal de los sujetos normales y los diferentes grupos de enfermos celíacos. (DAG = Después de la administración de gluten).

| | Tel | NTC | L | LTr | CP |
|------------------|-----|------|------|-----|------|
| Sujetos normales | 449 | 2668 | 1348 | 0 | 1320 |
| No tratados | 494 | 4680 | 665 | 109 | 3906 |
| Tratados | 419 | 3797 | 1058 | 12 | 2727 |
| 3 horas DAG | 329 | 3290 | 1159 | 70 | 2061 |
| 10 horas DAG | 462 | 4032 | 1248 | 113 | 2510 |
| 24 horas DAG | 427 | 3601 | 1294 | 107 | 2199 |

Tabla V. Relación de los valores promedio de la superficie epitelial de la mucosa (EPIT) y del volumen de la lámina propia (V.LP) en los sujetos normales y en los distintos grupos de enfermos celíacos. (DAG = Después de la introducción de gluten)

| | EPIT | V.LP |
|------------------|------|------|
| Sujetos normales | 154 | 90 |
| No tratados | 103 | 166 |
| Tratados | 125 | 140 |
| 3 horas DAG | 137 | 107 |
| 10 horas DAG | 140 | 140 |
| 24 horas DAG | 113 | 101 |

DISCUSION

Hay muchas pruebas que demuestran la existencia de alguna reacción inmunológica en la enfermedad celíaca. Sin embargo no se han conseguido datos precisos en cuanto a la clasificación y enumeración de las distintas series celulares inmunocompetentes que actúan en estas reacciones. Tampoco hay datos precisos en cuanto a la variación cronológica de las distintas proporciones celulares en relación a la aparición de la lesión en los pacientes tratados a los que se les vuelve a administrar gluten.

El presente estudio consigue estos datos de manera que puede llegarse a conclusiones definitivas en cuanto al tipo de reacción inmunológica presente en la enfermedad celíaca.

Estudio morfométrico ultraestructural:

Linfocitos:

Las distintas clasificaciones existentes en la actualidad sobre los linfocitos se

basan fundamentalmente en el diámetro celular y en una interpretación subjetiva de la cantidad de organelos citoplasmáticos (31-36). Nuestros resultados muestran disparidad entre estos dos parámetros. Células con gran diámetro pueden presentar escasos organelos y viceversa. Por esta razón creemos que es más conveniente considerar a los linfocitos como una serie celular con una amplia variabilidad en cuanto al tamaño y características citoplasmáticas. Solo cuando los linfocitos alcanzan estadios avanzados de transformación pueden subclasificarse desde el punto de vista ultraestructural.

En este estudio se demuestra que no existen diferencias significativas entre los linfocitos situados en las diversas localizaciones. Este resultado ya se había sugerido con anterioridad (37-39).

Es muy importante destacar la presencia de linfocitos en transformación solo a nivel de la lámina propia de la mucosa yeyunal de los pacientes celíacos tanto antes como después

del tratamiento, y que no se evidenciaron en los sujetos normales. De manera paralela en los casos patológicos se ha evidenciado un incremento de células plasmáticas, lo cual proporciona un valor funcional al método morfométrico y permite establecer la teoría de que estos linfocitos se transforman en células plasmáticas y por lo tanto la reacción inmunológica en este caso depende del sistema humoral o de los linfocitos B.

Por otro lado en ninguno de los casos evidenciamos signos de transformación linfocitaria a nivel de los teliolinfocitos, dato que va en contra con los resultados obtenidos por otros autores (36). Esta característica sugiere que la reacción inmunológica tiene lugar en la lámina propia de la mucosa yeyunal y no a nivel del epitelio.

Este hallazgo está de acuerdo con nuestra teoría de reacción humoral ya que se ha demostrado que los teliolinfocitos pertenecen al sistema T (40-42).

A pesar de que los linfocitos en transfor-

mación tienen una serie de características ultraestructurales importantes para diferenciarlos de los otros linfocitos, como pueden ser el aumento del área celular, lobulación nuclear y presencia de uno o varios nucleolos prominentes, el parámetro principal para su clasificación es un RER bien desarrollado. Es importante destacar el hecho de que este tipo de células sólo se encontró en la lámina propia de los enfermos celíacos. Es posible que también existan en la lámina propia de la mucosa yeyunal de los sujetos normales pero en mucha menor cantidad. Esta gran diferencia no puede ser explicada sólo por un error de muestreo, lo cual es una característica propia de las técnicas de microscopía electrónica, sino que sugiere la existencia de una respuesta inmunológica a un estímulo antígeno determinado en la enfermedad celíaca.

Células plasmáticas:

La célula plasmática es el tipo de célula predominante en la lámina propia de la muco-

sa yeyunal en la enfermedad celíaca. Desde el punto de vista ultraestructural es de fácil identificación debido a la gran cantidad de retículo endoplásmico rugoso presente en el citoplasma. Nuestros resultados numéricos, en cuanto al número de estas células, están de acuerdo con los obtenidos por otros autores (43-44). Tanto en los enfermos celíacos tratados como en los no tratados el aumento de células plasmáticas es significativo en relación al número en los sujetos normales. La alteración en el número de estas células también apoya la existencia de una reacción inmunológica del tipo humoral en la enfermedad celíaca.

Además del aspecto cuantitativo en el número de células plasmáticas, el presente estudio también proporciona datos objetivos del grado de activación de estas células. Algunos autores (45) mediante un estudio subjetivo, sugirieron que la dilatación del retículo endoplásmico rugoso de las células plasmáticas de los pacientes celíacos podría

explicar un aumento en su actividad inmunológica. Debido a que generalmente se acepta que la dilatación del retículo endoplásmico rugoso en cualquier tipo de célula representa un impedimento en la expulsión del material a secretar (46), hemos tomado como índice de activación de las células plasmáticas la longitud del retículo endoplásmico rugoso. La medición de este parámetro ha demostrado diferencias significativas entre la población de células plasmáticas de todos los grupos de enfermos celiacos y la misma población de células en los sujetos normales. Este dato, una vez más, apoya la existencia de una reacción inmunológica del tipo humoral.

Estudio morfométrico con microscopía óptica:

Una de las diferencias principales entre el presente trabajo y los trabajos previos realizados por otros autores radica en el número de teliolinfocitos (43,44,47). Generalmente el número de teliolinfocitos se ha cuantificado teniendo en cuenta unidades de

medida tales como un número de células epiteliales. Dichos autores demostraron un aumento significativo del número de teliolinfocitos en los pacientes celíacos tratados y no tratados en comparación con los sujetos normales.

Nuestros resultados muestran una disminución significativa en el área epitelial de la mucosa yeyunal y un aumento paralelo en el volumen de la lámina propia en los enfermos celíacos. La redistribución de las células epiteliales en el proceso del aplanamiento de la mucosa y la hiperplasia de criptas asociada, determina que los teliolinfocitos al situarse en la zona luminal de la mucosa se encuentran en mayor cantidad por unidad de epitelio luminal, en contraposición a la cantidad de la mucosa yeyunal (48). Debido a esta alteración, la capa epitelial de la mucosa yeyunal en la enfermedad celíaca no puede utilizarse como unidad de medida. La relación entre el número de teliolinfocitos y el de células epiteliales en realidad es

un índice útil que expresa la disminucuión del número de enterocitos en la enfermedad celíaca. Es muy importante que se haga una buena interpretación de esta relación. Al utilizar la muscularis mucosa como medida, la cual no está alterada o no se ha demostrado alteración alguna hasta la fecha en esta enfermedad, hemos demostrado que el número de teliolinfocitos no está alterado en la totalidad de la mucosa yeyunal de los enfermos celíacos. Este hecho es importante en cuanto a la función de los teliolinfocitos y a la patogenia de la enfermedad celíaca, ya que el no haber demostrado un aumento en el número se teliolinfocitos está en contra de la teoría que admite que estas células juegan un papel importante en la lesión del enterocito.

Por otro lado, nuestro estudio cuantitativo muestra una disminucuión de la superficie de la capa epitelial de la mucosa en los enfermos celíacos antes y después del tratamiento comparado con los sujetos nor-

males. Este hecho explica los resultados obtenidos por los autores que demostraron un aumento en el número de teliolinfocitos en los enfermos celíacos.

En cuanto a las densidades de los linfocitos y células plasmáticas situadas en la lamina propia de la mucosa yeyunal el presente trabajo demuestra que en sujetos normales el número de linfocitos y células plasmáticas es muy parecido. Sin embargo, el número de células plasmáticas muestra un aumento significativo en todos los grupos de enfermos celíacos, mientras que el número de linfocitos solo muestra una disminución significativa en los enfermos celíacos no tratados. En los otros grupos de pacientes, aunque hay una disminución en el número de linfocitos ésta no es significativa.

Cronología de la reacción inmunológica.

Estudios previos han demostrado que la ultraestructura de las células epiteliales no se altera hasta 98 horas después de la

introducción de gluten en los enfermos bien tratados, o 48 horas después en aquellos enfermos cuyo tratamiento no fué demasiado estricto. El infiltrado de polimorfonucleares aparece de 11 a 17 horas después de la administración de gluten, y las anomalías en el tejido conectivo, en las células endoteliales y en las membranas basales se detectaron de 24 a 98 horas después. Junto con estos cambios se evidenció un aumento en el número de linfocitos, linfoblastos y células plasmáticas (45). Otros estudios demostraron depósitos de IgM, C₃ y fibrinógeno en la mucosa yeyunal 12 horas después de la administración de gluten (49). Pudo demostrarse consumo de complemento de 1 a 6 horas después, y la aparición de complejos unidos a complemento de 4 a 24 horas después. El infiltrado celular de la lámina propia 24 horas después de la ingesta de gluten, consta principalmente de células mononucleares. Otros estudios han demostrado la presencia de depósitos inmunológicos en la membrana basal del epitelio (50). Todos estos hallaz-

gos apoyan la presencia de una reacción inmunológica tipo III.

En este trabajo se demuestra que el desarrollo de una reacción inmunológica aparece por lo menos 3 horas después de la administración de gluten, sin que durante este período de tiempo se evidencien lesiones ultraestructurales en las células epiteliales de la mucosa. Esta reacción inmunológica se caracteriza por una disminución en el número de linfocitos y un aumento en el número de linfocitos en transformación y de células plasmáticas en la lámina propia. Estos resultados, junto con la activación de las células plasmáticas, sugieren la presencia de una reacción inmunológica tipo III a nivel de la lámina propia, en la que los linfocitos B se transforman en células plasmáticas, las cuales presentan signos de marcada actividad. En ninguno de nuestros casos se demostraron depósitos electrodensos (complejos inmunológicos) en las membranas basales epiteliales ni en la misma lámina propia de la mucosa.

Finalmente es importante destacar el hecho de que los enfermos tratados durante un año con dieta sin gluten siguen presentando anomalías en cuanto a las proporciones celulares de la lámina propia, existencia de linfocitos en transformación, disminución del área de la mucosa y aumento del volumen de la lámina propia. Aunque nos consta que el tratamiento de estos enfermos fue estrictamente controlado, es difícil demostrar una ausencia total de gluten en la dieta. Lo que sí es evidente es que estos enfermos siguen desarrollando una reacción inmunológica, no lo suficientemente agresiva para producir lesiones enterocitarias. Este dato apoya la teoría de ciertos autores que la ausencia de gluten de la dieta no excluye la posibilidad de desarrollo de linfoma en estos pacientes (51,52). Por último es interesante tener presente la posibilidad de que otras sustancias distintas al gluten puedan actuar como antígenos desencadenando una reacción inmunológica humoral en la enfermedad celíaca.

BIBLIOGRAFIA

1. The coeliac philosophy.
The Lancet, II, 501, 1974.
2. GEE S.
On coeliac affection.
St. Bart's Hosp. Rep. 24, 17, 1888.
3. DICKE W.K.
Thesis.
Utrecht 1950.
4. PAULEY J. W.
Observations on aetiology of idiopathic
steatorrhoea; jejunal and lymph node
biopsies.
Br. Med. Journal, II, 1318, 1954.
5. DONIACH I., SHINER M.
Duodenal and jejunal biopsies.
Gastroenterology, 33, 71, 1957.
6. ASHWORTH C.T., CHEARS W.C.
Follow-up of intestinal biopsy in
non-tropical sprue after gluten free diet
and remission.
Fed. Proc. 21, 880, 1962.

7. ASHWORTH C.T., CHEARS W.C., SANDERS E.,
PEARCE M.B.
Non-tropical sprue; Fine structure of
the intestinal epithelial lesion.
Arch. Path. Chicago. 71, 13, 1961.
8. CURRAN R.C., CREAMER B.
Ultrastructural changes in some disorders
of the small intestine associated with
malabsorption.
J. Path. Bact. 86, 1, 1963.
9. HARTMAN R.S., BUTTERWORTH C.E., HARTMAN R.E.
CROSBY W.H., SHIRAI A.
An electron microscopic investigation of
the jejunal epithelium in sprue.
Gastroenterology 38, 506, 1960.
10. NUÑEZ-MONTIEL O., BAUZA C.A., BRUNSER O.,
SEPULVEDA H.
Ultrastructural variations of the jejunum
in the malabsorption syndrome.
Lab. Invest. 12, 16, 1963.
11. PADYKULA H.A., STRAUSS E.W., LADMAN A.J.,
Gardner F.H.
A morphologic and histochemical analysis
of the human jejunal epithelium in
nontropical sprue.
Gastroenterology, 40, 735, 1961.

12. RUBIN C.E., BRANDBORG L.L., FLICK A.L., MacDONALD W.C., PARKINS R.A., PARMENTIER C.M., PHIELPS P., SRIBHDHADH S., TRIER J.S.
Biopsy studies on the pathogenesis of coeliac sprue.
In Intestinal Biopsy, Ciba Foundation Study Group 14, p. 67, Boston, Little Brown and Company, 1962.
13. RUFFIN J.M., KURTZ S.M., BORLAND J.L., BAIN C.R., ROUFAL W.M.
Gluten-free diet for nontropical sprue; immediate and prolonged effects.
J.A.M.A. 188, 42, 1964.
14. SHEARMAN D.J.C., GIRWOOD R.M., WILLIAMS A.W., DELAMORE I.W.
A study with the electron microscope of the jejunal epithelium in primary malabsorptive disease.
Gut 3, 16, 1962.
15. SHINER M., BIRBECK M.S.C.
The microvilli of the small intestine surface epithelium in coeliac disease and idiopathic steatorrhoea.
Gut 2, 277, 1961.
16. SHINER M., LACY D., HUDSON R.M.
Electron microscope study of fat absorption in normal subjects and in patients with idiopathic steatorrhoea.
In intestinal Biopsy, Ciba Foundation Study Group p.24, Boston, Little Brown and Co. 1962

17. ZETTERQWIST., HENDRIX T.R.
A preliminary note on an ultrastructural abnormality of the intestinal epithelium in adult coeliac disease (non-tropical sprue) which is reversed by a gluten-free diet.
Bull. Hopkins Hosp. 106, 240, 1960.
18. KIVEL R.M., KEARNS D.H., LIEBOWITZ D.
Significance of antibodies to dietary proteins in the serum of patients with nontropical sprue.
New Engl. J. Med. 271, 769, 1964.
19. ASQUITH P., THOMPSON R.A., COOKE W.T.
Serum immunoglobulins in adult coeliac disease.
Lancet, 11, 129, 1969.
20. HOBBS J.R., HEPNER G.W., DOUBLAS A.P., CRABBE P.A., Johansson S.G.D.
Immunological mystery of coeliac disease.
Lancet 11, 649, 1969.
21. BLECHER T.E., AJDUKIEWICZ A.B., McCarthy C.F., READ A.E.
Serum immunoglobulins and lymphocyte transformation studies in coeliac disease.
Gut 10, 57, 1969.

22. BROWN D.L., COOPER A.G., HEPNER G.W.
IgM metabolism in coeliac disease.
Lancet 1, 858, 1969.
23. HARRIS O.D., COOKE W.T., THOMPSON H.,
WATERHOUSE J.A.H.
Malignancy in adult coeliac disease and
idiopathic steatorrhoea.
Amer. J. Med. 42, 899, 1967.
24. RUBIN W., FAUCI A.S., SLEISENGER M.H.,
JEFFRIE S.G.H.
Immunofluorescent studies in adult
coeliac disease.
J. Clin. Invest. 44, 475, 1965.
25. RUBIN W.
Coeliac disease.
Amer. J. Clin. Nutr. 24, 91, 1971.
26. LePORE M.J.
Long-term on maintenance adrenal steroid
therapy in nontropical sprue.
Amer. J. Med. 25, 384, 1958.
27. WALL A. J., DOUGLAS A.P., BOOTH C.C.,
PEARSE A.P.E.
Response of the jejunal mucosa in adult
coeliac disease to oral prednisolone.
Gut. 11, 7, 1970.

28. DELESSE M.
Compt. Rend. 25, 544, 1847.
29. GLAGOLEFF A.A.
Trans. Inst. Econ. Mineral. 59, 1933.
30. DUNNILL M.S., WHITEHEAD R.
A method for the quantitation of small
intestinal biopsy specimens.
J. Clin. Path. 25, 243, 1972.
31. PARKER J.W., WAKASA H., LUKES R.J.
The morphologic and cytochemical
demonstration of lysosomes in
lymphocytes incubated with
Phytohamagglutinin by electron
microscopy.
Lab. Invest. 14, 1736, 1965.
32. MORI Y., Lennert K.
Electron microscopic atlas of lymph node.
Cytology and Pathology, Springer-Verlang
Berlin, Heidelberg, New York, 1969.
33. WIENER J.
Ultrastructural aspects of delayed
hypersensitivity.
Curr. Top. Pathol., 52, 143, 1970.
34. COLLAN Y.
Characteristics of nonepithelial cells in
epithelium of normal rat ileum.
Scand. J. Gastroenterol. (Suppl) 7,8,1972

35. OTTO H.F.
The intraepithelial lymphocytes of the
intestinum. Morphological observations,
and immunological aspects of intestinal
enteropathy.
Curr. Top. Pathol. 57, 81, 1973.
36. MARSH M.N.
Studies of intestinal lymphoid tissue.
Electron microscopic evidence of blast
transformation in epithelial lymphocytes
of mouse small intestinal mucosa.
Gut, 16, 664, 1975.
37. CLAWSON C.C, COOPER M.C., GOOD R.A.
Lymphocyte fine structure in the Bursa
of Fabricius, the thymus and the germinal
centres.
Lab. Invest. 16, 407, 1967.
38. HEBEL R., LIEBICH H.G.
Elektronemikroskopische untersuchungen
und kleinen Lymphozyten aus dem Ductus
thoracicus der Ratte.
Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 93,232,1969
39. WATANABE I., DONAHUE S., HOGATT N.
Method for electron microscopic
studies of circulating human lymphocytes
and observations on their fine structure.
J. Ulstrastruct. Res. 17, 245, 1967.

40. TERGUSON A., PARROTT D.M.V.
The effect of antigen deprivation on thymus-dependent and thymus-independent lymphocytes in the small intestine of the mouse.
Exp. Immunol. 12, 477, 1972.
41. FICHTELIUS K. E., YUNIS E.J., GOOD R.A.
Ocurrence of lymphocytes within the gut epithelium of normal and neonatally thymectomized mice.
Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.) 128, 185, 1968.
42. BACK O.
Studies of the lymphocytes in the intestinal epithelium of chicken.III. Effect of thymectomy.
Int. Arch. Allergy 39, 192, 1970.
43. HOLMES G.K.T., ASQUITH P., STOKES P.L., COOKE W.T.
Cellular infiltrate of jejunal biopsies in adult coeliac disease in relation to Gluten withdral.
Gut 15, 278, 1974.
44. LANCASTER-SMITH M., PACKER S., KUMAR P.J HARRIES J.T.
Celular infiltrate of the jejunum after re-introduction of dietary gluten in children with treated coeliac disease.
J. Clin. Path. 29, 587, 1976.

45. SHINER M.
Ultrastructural changes suggestive of immune reactions in the jejunal mucosa of coeliac children following gluten challenge.
Gut 14, 1, 1973.
46. GHANDIALLY F.N.
Ultrastructural pathology of the cell
First edition, London and Boston.
Butterworths, 1977, p. 222-254.
47. ASQUITH P.
Cell, mediated immunity in coeliac disease. Proceedings of the second international Coeliac Symposium.
W. Th. J.M. HEKKENS and A. S. PEÑA.
Stenfert Kroese, 1974, p. 242.
48. FERGUSON A.
Lymphocytes in coeliac disease.
Proceedings of the second international Coeliac Symposium. W. Th. HEKKENS, A.S. PEÑA.
Stenfert Kroese, 1974, p. 265.
49. DOE W.F., HENRY K., BOOTH C.C.
Complement in coeliac disease.
Proceedings of the seconds International Coeliac Symposium.
W. Th. J.M. HEKKENS and A.S. PEÑA.
Stenfert Kroese 1974, p. 189.

50. GREEN F.H.Y., CARTY J.E.
Coeliac disease and autoimmunity.
Lancet I, 964, 1976.
51. HOLMES G.K.T., STOKES P.L., SORAHAN T.M.
PRIOR P., WATERHOUSE J.A.H., COOKE W.T.
Coeliac disease, Gluten free diet and
malignancy.
Gut. 17, 612-619, 1976.
52. THOMPSON H.
Pathology of coeliac disease.
Current topics in Pathology 63, 50-75;
1976.



FUNDACION JUAN MARCH

SERIE UNIVERSITARIA

TITULOS PUBLICADOS

Serie Marrón

(Filosofía, Teología, Historia, Artes Plásticas, Música, Literatura y Filología)

- | | | | |
|----|---|----|---|
| 1 | Fierro, A.: Semántica del lenguaje religioso. | 60 | Alcalá Galvé, A.: El sistema de Servet. |
| 10 | Torres Monreal, F.: El teatro español en Francia (1935-1973). | 61 | Mourão-Ferreira, D., y Ferreira, V.: Dos estudios sobre literatura portuguesa contemporánea. |
| 12 | Curto Herrero, F. Fco.: Los libros españoles de caballerías en el siglo XVI. | 62 | Manzano Arjona, M.ª: Sistemas intermedios. |
| 14 | Valle Rodríguez, C. del: La obra gramatical de Abraham Ibn Ezra. | 67 | Acero Fernández, J. J.: La teoría de los juegos semánticos. Una presentación. |
| 16 | Solís Santos, C.: El significado teórico de los términos descriptivos. | 68 | Ortega López, M.: El problema de la tierra en el expediente de Ley Agraria. |
| 18 | García Montalvo, P.: La imaginación natural (estudios sobre la literatura fantástica norteamericana). | 70 | Martín Zorraquino, M.ª A.: Construcciones pronominales anómalas. |
| 21 | Durán-Lóriga, M.: El hombre y el diseño industrial. | 71 | Fernández Basterreche, F.: Sociología del ejército español en el siglo XIX. |
| 32 | Acosta Méndez, E.: Estudios sobre la moral de Epicuro y el Aristóteles esotérico. | 72 | García Casanova, J. F.: La filosofía hegeliana en la España del siglo XIX. |
| 40 | Estefanía Álvarez, M.ª del D. N.: Estructuras de la épica latina. | 73 | Meya Llopart, M.: Procesamiento de datos lingüísticos. Modelo de traducción automática del español al alemán. |
| 53 | Herrera Hernández, M.ª T.: Compendio de la salud humana de Johannes de Ketham. | 75 | Artola Gallego, M.: El modelo constitucional español del siglo XIX. |
| 54 | Flaquer Montequí, R.: Breve introducción a la historia del Señorío de Buítrago. | 77 | Almagro-Gorbea, M., y otros: C-14 y Prehistoria de la Península ibérica. |

- 94 Falcón Márquez, T.:
La Catedral de Sevilla.
- 98 Vega Cernuda, S. D.:
J. S. Bach y los sistemas contrapuntísticos.
- 100 Alonso Tapia, J.:
El desorden formal de pensamiento en la esquizofrenia.
- 102 Puentes Florido, F.:
Rafael Cansinos Assens (novelista, poeta, crítico, ensayista y traductor).

Serie Verde

(Matemáticas, Física, Química, Biología, Medicina)

- 2 Mulet, A.:
Calculador en una operación de rectificación discontinua.
- 4 Santiuste, J. M.:
Combustión de compuestos oxigenados.
- 5 Vicent López, J. L.:
Películas ferromagnéticas a baja temperatura.
- 7 Salvá Lacombe, J. A.:
Mantenimiento del hígado dador in vitro en cirugía experimental.
- 8 Plá Carrera, J.:
Estructuras algebraicas de los sistemas lógicos deductivos.
- 11 Drake Moyano, J. M.:
Simulación electrónica del aparato vestibular.
- 19 Purroy Unanua, A.:
Estudios sobre la hormona Natriurética.
- 20 Serrano Molina, J. S.:
Análisis de acciones miocárdicas de bloqueantes Beta-adrenérgicos.
- 22 Pascual Acosta, A.:
Algunos tópicos sobre teoría de la información.
- 25 I Semana de Biología:
Neurobiología.
- 26 I Semana de Biología:
Genética.
- 27 I Semana de Biología:
Genética.
- 28 Zugasti Arbizu, V.:
Analizador diferencial digital para control en tiempo real.
- 29 Alonso, J. A.:
Transferencia de carga en aleaciones binarias.
- 30 Sebastián Franco, J. L.:
Estabilidad de osciladores no sinusoidales en el rango de microondas.
- 39 Blasco Olcina, J. L.:
Compacidad numerable y pseudocompacidad del producto de dos espacios topológicos.
- 44 Sánchez Rodríguez, L.:
Estudio de mutantes de *saccharomyces cerevisiae*.
- 45 Acha Catalina, J. I.:
Sistema automático para la exploración del campo visual.
- 47 García-Sancho Martín, F. J.:
Uso del ácido salicílico para la medida del pH intracelular.
- 48 García García, A.:
Relación entre iones calcio, fármacos ionóforos y liberación de noradrenalina.
- 49 Trillas, E., y Alsina, C.:
Introducción a los espacios métricos generalizados.
- 50 Pando Ramos, E.:
Síntesis de antibióticos aminoglicosídicos modificados.
- 51 Orozco, F., y López-Fanjul, C.:
Utilización óptima de las diferencias genéticas entre razas en la mejora.

- 52 Gallego Fernández, A.:
Adaptación visual.
- 55 Castellet Solanas, M.:
Una contribución al estudio de las teorías de cohomología generalizadas.
- 56 Sánchez Lazo, P.:
Fructosa 1,6 Bisfosfatasa de hígado de conejo: modificación por proteasas lisosomales.
- 57 Carrasco Llamas, L.:
Estudios sobre la expresión genética de virus animales.
- 59 Afonso Rodríguez, C. N.:
Efectos magneto-ópticos de simetría par en metales ferromagnéticos.
- 63 Vidal Costa, F.:
A la escucha de los sonidos cerca de T_λ en el 4_{Hc} líquido.
- 65 Andréu Morales, J. M.:
Una proteína asociada a membrana y sus subunidades.
- 66 Blázquez Fernández, E.:
Desarrollo ontogénico de los receptores de membrana para insulina y glucagón.
- 69 Vallejo Vicente, M.:
Razas vacunas autóctonas en vías de extinción.
- 76 Martín Pérez, R. C.:
Estudio de la susceptibilidad magnetoelectrónica en el Cr_2O_3 policristalino.
- 80 Guerra Suárez, M.^a D.:
Reacción de Amidas con compuestos organoaluminícos.
- 82 Lamas de León, L.:
Mecanismo de las reacciones de yodación y acoplamiento en el tiroides.
- 84 Repollés Moliner, J.:
Nitrosación de aminas secundarias como factor de carcinogénesis ambiental.
- 86 II Semana de Biología:
Flora y fauna acuáticas.
- 87 II Semana de Biología:
Botánica.
- 88 II Semana de Biología:
Zoología.
- 89 II Semana de Biología:
Zoología.
- 91 Viéitez Martín, J. M.:
Ecología comparada de dos playas de las Rías de Pontevedra y Vigo.
- 92 Cortijo Mérida, M., y García Blanco, F.:
Estudios estructurales de la glucógeno fosforilasa b.
- 93 Aguilar Benítez de Lugo, E.:
Regulación de la secreción de LH y prolactina en cuadros anovulatorios experimentales.
- 95 Bueno de las Heras, J. L.:
Empleo de polielectrolitos para la floculación de suspensiones de partículas de carbón.
- 96 Núñez Alvarez, C., y Ballester Pérez, A.:
Lixiviación del cinabrio mediante el empleo de agentes complejantes.
- 101 Fernández de Heredia, C.:
Regulación de la expresión genética a nivel de transcripción durante la diferenciación de Artemia salina.

Serie Roja

(Geología, Ciencias Agrarias, Ingeniería, Arquitectura y Urbanismo)

- 3 Velasco, F.:
Skarns en el batolito de Santa Olalla.
- 6 Alemán Vega, J.:
Flujo inestable de los polímeros fundidos.
- 9 Fernández-Longoria Pinazo, F.:
El fenómeno de inercia en la renovación de la estructura urbana.
- 13 Fernández García, M.^a P.:
Estudio geomorfológico del Macizo Central de Gredos.
- 15 Ruiz López, F.:
Proyecto de inversión en una empresa de energía eléctrica.
- 23 Bastarache Alfaro, M.:
Un modelo simple estático.
- 24 Martín Sánchez, J. M.:
Moderna teoría de control: método adaptativo-predictivo.
- 31 Zapata Ferrer, J.:
Estudio de los transistores FET de microondas en puerta común.
- 33 Ordóñez Delgado, S.:
Las Bauxitas españolas como mena de aluminio.
- 35 Jouvé de la Barreda, N.:
Obtención de series aneuploides en variedades españolas de trigo común.
- 36 Alarcón Alvarez, E.:
Efectos dinámicos aleatorios en túneles y obras subterráneas.
- 38 Lasa Dolhagaray, J. M., y Silván López, A.:
Factores que influyen en el espigado de la remolacha azucarera.
- 41 Sandoval Hernández, F.:
Comunicación por fibras ópticas.
- 42 Pero-Sanz Elorz, J. A.:
Representación tridimensional de texturas en chapas metálicas del sistema cúbico.
- 43 Santiago-Alvarez, C.:
Virus de insectos: multiplicación, aislamiento y bioensayo de Baculovirus.
- 46 Ruiz Altisent, M.:
Propiedades físicas de las variedades de tomate para recolección mecánica.
- 58 Serradilla Manrique, J. M.:
Crecimiento, eficacia biológica y variabilidad genética en poblaciones de dípteros.
- 64 Farré Muntaner, J. R.:
Simulación cardiovascular mediante un computador híbrido.
- 79 Fraga González, B. M.:
Las Giberelinas. Aportaciones al estudio de su ruta biosintética.
- 81 Yáñez Parareda, G.:
Sobre arquitectura solar.
- 83 Díez Viejobueno, C.:
La Economía y la Geomatemática en prospección geoquímica.
- 90 Pernas Galí, F.:
Master en Planificación y Diseño de Servicios Sanitarios.
- 97 Joyanes Pérez, M.^a G.:
Estudios sobre el valor nutritivo de la proteína del mejillón y de su concentrado proteico.
- 99 Fernández Escobar, R.:
Factores que afectan a la polinización y cuajado de frutos en olivo (Olea europaea L.).

Serie Azul

(Derecho, Economía, Ciencias Sociales, Comunicación Social)

- | | | | |
|----|---|----|---|
| 17 | Ruiz Bravo, G.: Modelos econométricos en el enfoque objetivos-instrumentos. | 74 | Hernández Lafuente, A.: La Constitución de 1931 y la autonomía regional. |
| 34 | Durán López, F.: Los grupos profesionales en la prestación de trabajo: obreros y empleados. | 78 | Martín Serrano, M., y otros: Seminario sobre Cultura en Periodismo. |
| 37 | Lázaro Carreter, F., y otros: Lenguaje en periodismo escrito. | 85 | Sirera Ollag, M. ^a J.: Las enseñanzas secundarias en el País Valenciano. |

