

**RICO IRLES, RODRIGUEZ
TORRES, ABADIA-FENOLL,
GARCIA GARCIA, LLORENTE**

**ESTUDIOS MEDICOS
Y BIOLÓGICOS**



**PUBLICACIONES DE LA
FUNDACION JUAN MARCH**

colección de monografías
Fundación Juan March

GUADARRAMA

ESTUDIOS MEDICOS Y BIOLOGICOS

COLECCION DE MONOGRAFIAS

**SECCION 5ª—BIOLOGIA, MEDICINA, FARMACIA, VETERINARIA
Y CIENCIAS AGRARIAS**

ESTUDIOS MEDICOS Y BIOLÓGICOS

COLECCION DE MONOGRAFIAS
SECCION 2.- BIOLOGIA, MEDICINA, FARMACIA, VETERINARIA
Y CIENCIAS AFINES

RICO IRLES - RODRIGUEZ TORRES - ABADIA-
FENOLL - GARCIA GARCIA - LLORENTE
RODRIGUEZ

ESTUDIOS MEDICOS Y BIOLOGICOS



PUBLICACIONES DE LA
FUNDACION JUAN MARCH
GUADARRAMA

*Trabajo patrocinado por la
Fundación Juan March.
Informó para su aprobación
el Secretario del Departamento de
Medicina, Farmacia y Veterinaria:
José Laporte Salas*

* * *

*Trescientos ejemplares de esta obra han sido donados por la Fundación
Juan March a centros culturales y docentes.*

© Copyright by

FUNDACION JUAN MARCH

Depósito legal: M. 19.768 - 1972

Printed in Spain by

TORDESILLAS, ORGANIZACIÓN GRÁFICA Sierra de Monchique, 25 - MADRID

INDICE

INDICE

Estudios clínico-bioquímicos sobre la enzimopatía por déficit de glucosa-6-fosfato-dehidrogenasa	11
Infecciones por virus respiratorio sincitial en una colectividad infantil	119
Aislamiento de virus respiratorio en el curso de un brote epidémico de procesos respiratorios agudos	153
Sobre tres casos de infección por virus respiratorio sincitial.	169
Anticuerpos frente al virus respiratorio sincitial en sueros de individuos normales de diferentes grupos de edad ...	179
Estudio óptico y electrónico de la morfología de la transmisión nerviosa a nivel del sistema nervioso central. Aportaciones con una nueva técnica	185
Sinergismo entre las hormonas tirotrópica, somatropina e insulina en la regulación de la función tiroidea	215
Regulación de la fosfofructokinasa del músculo	255

Relaciones de la ...	332
... de la ...	312
... con ...	182
... y ...	132
... de ...	122
... de ...	112
... de ...	11

ESTUDIOS CLINICO-BIOQUIMICOS SOBRE LA ENZIMO-
PATIA POR DEFICIT DE GLUCOSA-6-FOSFATO-DEHI-
DROGENASA

por el Doctor José Rico Irlés

Por el Doctor José María

DONOSIA

YAZTU BOB DELICIA DE GREGORIO LORENTÓ DENE
ESLUDIOS CLÁSICO-BIOGRÁFICOS SOBRE TU EXISTEN

I

INTRODUCCION

El fermento glucosa-6-fosfato-dehidrogenasa (Gl-6-FDH) es conocido desde 1927 tras las investigaciones de Warburg y su escuela en los organismos animales. Sin embargo, su investigación fue durante muchos años objeto exclusivo de interés de laboratorios experimentales. Una serie de hechos clínicos conocidos desde tiempo atrás han venido a relacionarse últimamente con el estudio de este enzima.

Recordemos el adagio atribuido a Pitágoras: «Líbrate de las habas», debido al parecer al conocimiento de los peligros de hemolisis que podían sobrevenir en algunos sujetos que las ingerían. La primera afirmación clara sobre la relación entre la ingesta de habas verdes y la aparición de una ictericia parece que fue hecha por un portugués, Manuel Pereira de Mira Franco, en 1843. Otros autores italianos (Mule Bertolo, Morici, etc.) estudiaron detenidamente este fenómeno y demostraron que no sólo se podía producir una hemolisis intravascular con la ingestión de habas verdes, sino también con la simple inhalación del polen de la planta. También se llamó pronto la atención sobre el hecho de que se trataba de una enfermedad hereditaria. En 1894, Montano propone por vez primera el nombre de «favismo» para designar este cuadro, afirmando la importancia de la existencia de dos factores, a saber: una causa predisponente (idiosincrasia individual) y un factor desencadenante (la ingestión de habas). Finalmente, el autor defendía la importancia etiológica de un hipotético principio químico, tóxico, no bacteriano, contenido en las habas (citado por De Toni).

En 1896, Pucci observó en 7 enfermos de favismo que 4 de ellos sufrieron crisis hemolíticas tras la ingestión de quinina; en los 3 restantes se acentuaba el cuadro previo de favismo. Observaciones análogas también fueron comunicadas por Conti y Auricchio en 1944 y 1945, respectivamente.

En 1926, Cordes llamó la atención sobre las crisis hemolíticas sufridas por la población negra de los Estados Unidos tras la administración de antipalúdicos de síntesis. Alving, en 1952, vuelve a ocuparse de este problema, llegando a afirmar que administrar una dosis de primaquina de 30 mgr./día sin control médico constituye una imprudencia que el médico no debe cometer. En 1953 el autor anterior, junto con Beutler, Dearn y Carson, entre otros, inician una serie de investigaciones sistemáticas para esclarecer el mecanismo de las «anemias hemolíticas tras ingestión de primaquina». Era sabido que la primaquina y otros antipalúdicos de síntesis derivados de la 8-amino-quinoléina administrados aun en dosis terapéuticas, si bien se toleraban perfectamente por la mayor parte de la población, eran capaces, sin embargo, de desencadenar crisis hemolíticas agudas en un reducido número de sujetos, evidentemente predispuestos. Por otra parte, esta predisposición afecta a un número muy superior de individuos de raza negra respecto a los de raza blanca o caucásica. Todas estas investigaciones llevaron a revelar la existencia de una sensibilidad especial en los eritrocitos de los sujetos predispuestos a estas crisis hemolíticas. Beutler, Dearn y Alving apreciaron también que la hemólisis se producía precisa o preferentemente en los hematíes de más edad, o más viejos. También aportaron la observación de que en período previo a la hemólisis los eritrocitos sensibles presentan, al observarlos microscópicamente, unos corpúsculos, ya descritos por Heinz, que desaparecen rápidamente con la progresión de la anemia. Por último, siempre refiriéndonos a los anteriores autores, los eritrocitos primaquin-sensibles tenían un contenido en glutatión reducido (GSH) claramente inferior al de los hematíes normales en cantidad; que, además, tendía a desaparecer rápidamente cuando se sometían a incubación en una solución glucosa de acetyl-fenilhidrazina (AFH). *De aquí la importancia, destacada por estos autores, de la determinación de GSH en condiciones basales y tras incubación en AFH en la detección de este tipo de anemias (test de Beutler).*

Carson y colaboradores estudiaron, por otra parte, el comportamiento enzimático de los hematíes de estos pacientes primaquin-sensibles. De ello salió al descubierto *la existencia en los mismos de un defecto en la actividad del enzima Gl-6-FDH eritrocitaria*, hecho comprobado después unánimemente por otros muchos autores.

Por último, y como nexo de unión con lo anterior, los estu-

dios de Sansone y colaboradores, Larizza y colaboradores, Lohr, Waller y colaboradores, Zinkhan y colaboradores, Szeinberg y colaboradores y otros, pusieron de manifiesto que en los sujetos afectos de favismo existía un sustrato patológico de la misma naturaleza que el encontrado en los sujetos primaquinsensibles: es decir, *un déficit probable en la cuantía de GSH de sus hematies, una gran inestabilidad del GSH tras la incubación en AFH; y sobre todo, un defecto enzimático en la actividad de la Gl-6-FDH eritrocitaria.*

Desistimos de continuar con la historia de estos conocimientos. Remitimos a los interesados a las publicaciones de Beutler (en *Metabopatías hereditarias*, 20), De Toni (54) o de nosotros mismos (Rico Irles, 161).

II

EXTENSION GEOGRAFICA DEL DEFECTO

El déficit enzimático por Gl-6-FDH está ampliamente repartido por todo el globo, calculándose que afecta a unos 100 millones de personas (98). Ha sido encontrado entre los negros de los Estados Unidos con alta incidencia (34, 88); en grupos de población no seleccionada del mismo país (98); en Cerdeña, tradicionalmente endémica en cuadros de favismo (117, 162, 179, 170); en Israel y en grupos judíos diseminados por todo el mundo (kurdos, sefarditas, etc.) (34, 197); en Africa Oriental, Occidental y del Sur (2, 3, 4, 82, 83, 180, 41, 136), así como en Madagascar (61). En el Norte de Africa no conocemos la publicación de casos autóctonos: uno reconocido era de origen español, y otro, sardo (79, 176). En Asia se ha encontrado el defecto en el Líbano (199), Arabia Saudita (80), Irán (208), India (142), Tailandia (108), Indochina (216), Java, Nueva Guinea, Filipinas (101, 68) y China (16, 39). En Europa, aparte de Italia (con extensas comunicaciones: 87, 110, 111, 112, 113, 128, 172, 174, etc.), se ha descrito algún caso en Francia (40, 206) y en Inglaterra (38, 68). También en Alemania y en Suiza (78, 138), aunque en estos casos hay antecedentes mediterráneos. Abundantes observaciones hay también en Grecia (43, 44, 62, 72, 188, 217). En México se ha publicado un caso de origen sefardita (119).

No se ha observado el defecto entre japoneses, australianos aborígenes, ni entre los pieles rojas de los Estados Unidos (citado en 161).

En España era conocido clínicamente el favismo (muy bien estudiado por Pedro Pons y Surinyach Oller en la población balear, y por Díaz Calero en la provincia de Málaga, 150, 55). Sin embargo, no existía ningún estudio bioquímico de este proceso. Las primeras publicaciones en este sentido se deben a Peláez Redondo, Rico Irlés y Mora Lara (140, 141, 151, 160),

publicaciones que constituyen el antecedente inmediato del estudio que ahora presentamos.

De estas investigaciones sobre grandes masas de población parecen resaltar dos hechos:

1) El diverso porcentaje del trastorno según los grupos étnicos. La mayor incidencia del trastorno se da entre los judíos kurdos (60 % de ellos presentan déficit enzimático, no el cuadro clínico). En otros grupos de origen no mediterráneo la incidencia es escasamente del 1 por 100. Entre la población griega los estudios revelan una incidencia entre el 4 y 10 por 100.

2) El área de distribución del trastorno es superponible con las zonas de extensión de otros defectos conocidos de más antiguo: la anemia drepanocítica, talasemia y malaria. La coincidencia en especial con esta última afección sugiere que la enzimopatía fuese un mecanismo atávico de defensa del organismo humano frente a la infección por plasmodium. No obstante, la explicación parece ser mucho más compleja (102, 108).

III

CLINICA DEL DEFECTO

El defecto hereditario por déficit en Gl-6-FDH se traduce clínicamente por una serie de cuadros que exponemos con la mayor brevedad. Una vez más, para más detallada exposición remitimos a otros estudios previos (20, 54, 161).

Accidentes hemolíticos agudos por ingestión de un determinado fármaco (antipalúdicos de síntesis y otros muchos anteriormente descubiertos) o sustancia vegetal (habas principalmente, y en mucha menor frecuencia, garbanzos, guisantes e incluso higos chumbos), que actúan como desencadenantes. Este es el caso de las anemias hemolíticas agudas por primaquina o del favismo. Fisiopatológicamente hay, sin embargo, diferencias importantes entre estos dos cuadros: en las anemias por primaquina existe casi una relación causa-efecto entre la existencia del fallo enzimático y la toma del preparado. En los sujetos fávicos, con gran frecuencia se descubren individuos portadores de la tara enzimática que, sin embargo, y a pesar de haber ingerido habas frescas varias veces en su vida nunca sufrieron una crisis hemolítica. Esto parece indicar que en estas personas no sólo existe el defecto a nivel del hematíe, sino que, además, el desencadenamiento de la crisis está también condicionado a un factor desconocido, posiblemente plasmopático, como ya apuntaba Surinyach Oller (150). En una de nuestras publicaciones previas ya anotábamos también nosotros esta observación clínico-bioquímica (160).

Anemias hemolíticas crónicas no esféricas. Son cuadros clínicos más acusados que los anteriores en su duración, extensión e intensidad. En estos casos los sujetos, junto a las circunstancias desencadenantes anteriormente expuestas, pueden sufrir crisis hemolíticas sin una causa externa aparente.

Hepatopatías de evolución crónica y déficit de Gl-6-FDH. Publicaciones muy recientes indican la coincidencia de hepatitis

de evolución crónica o con tendencia a cursar con cuadros anémicos; o bien de cirrosis hepáticas, junto con el defecto. Se discute en la actualidad si se trata de simple incidencia del defecto en personas afectas con este otro cuadro hepático: o si se trata más bien de una forma clínica especial que traduzca una nueva mutante genética del defecto enzimático.

Ictericia hemolítica del recién nacido. En estos casos había antecedentes hereditarios del defecto enzimático y en ellos mismos se pudo comprobar el trastorno de sus hematíes.

Herencia del defecto. Clínicamente pudo comprobarse, ya mucho antes de que las investigaciones bioquímicas lo corroboraran, que se trata de una afección de carácter hereditario, posiblemente dominante incompleta y transmitida a través del cromosoma sexual X. Se trata en suma de una *enzimopatía hereditaria* que reviste formas clínicas variadas (Larizza, Motulski, Childs y Zinkhan, etc., 112, 142, 42).

El deseo de conocer, ante todo, la incidencia de la enzimopatía por déficit de Gl-6-FDH entre la población española, así como sus caracteres especiales y expresión clínica entre nosotros, es lo que nos ha llevado a realizar esta investigación laboriosa, que exponemos seguidamente con detalle.

IV

MATERIAL Y METODOS

Fue sometido a este estudio un total de 1.002 personas de ambos sexos, de edades comprendidas entre los 30 días de vida y los 100 años (en un caso concreto). La mayor parte de esta población es de edades comprendidas entre los 20 y 40 años.

El origen de este grupo de personas es diverso, a saber:

a) 401 personas son voluntarios (médicos, enfermeras, estudiantes de Medicina, donantes de sangre), así como convalecientes plenamente recuperados a los que clínicamente podíamos considerar como sanos.

b) 573 son pacientes encamados en el Hospital Clínico de San Cecilio, de la Facultad de Medicina de Granada, por diversos motivos. Únicamente fueron incluidos en este estudio aquellos que tenían un diagnóstico claramente establecido. El reparto numérico de enfermos estudiados con arreglo a su afección es como sigue:

Hepatopatías (hepatitis, cirrosis, etcétera)	56	pacientes
Malignomas (tumores sólidos)	61	»
Diabetes y otras endocrinopatías	45	»
Afecciones renales	36	»
Afecciones pleuropulmonares	44	»
Procesos digestivos	83	»
Infecciones y fiebre reumática	42	»
Artritis reumatoide y lupus eritematoso	32	»
Afecciones varias	137	»
Afecciones hematológicas y reticulosis	37	»

c) 28 personas más fueron estudiadas, bien por haber ingresado directamente con la fuerte sospecha de padecer una forma clínica del defecto por Gl-6-FDH, bien por ser familiares de estos pacientes en los cuales pudo evidenciarse el defecto; 5 familias

completas pudieron ser estudiadas en todos o casi todos sus miembros. En 3 de ellas uno de sus miembros tuvo una *crisis hemolítica aguda*, que dio lugar a su diagnóstico y ulterior exploración en los demás familiares: se trataba de un déficit de Gl-6-FDH. En otra más, la madre de la familia, portadora de una cirrosis alcohólica y una anemia megaloblástica, encamada en nuestros servicios, fue el origen para el descubrimiento de una *forma crónica del defecto*. Otra familia incluida en nuestro estudio es portadora de una *talassemia minor* y fue reconocida a través de una subictericia crónica que portaba la madre y que la llevó a nuestra consulta privada. Por las relaciones entre esta hemopatía y el déficit Gl-6-FDH la hemos incluido en el presente estudio.

El 98 por 100 de las personas estudiadas son de la provincia de Granada. Muy pocos pacientes proceden de provincias limítrofes (Jaén, Almería, Málaga, Córdoba), un paciente es nacido en Madrid y otro paciente, que ingresó en nuestra clínica con un caso de anemia hemolítica aguda por favismo, es un estudiante

FICHA UTILIZADA SISTEMATICAMENTE EN NUESTRAS
INVESTIGACIONES

Nombre: S Edad N °

Naturaleza Vecino de

Enfermedad actual

Antec. personales

Antec. familiares

Hematfés Hemoglobina

Gl-6-FDH: Visual Espectr.

GSH: Simple: A. F. H.

Observaciones:

de Medicina de nuestra Facultad nacido en Amman (Jordania). En todos estos sujetos se han realizado 1.620 determinaciones especiales relacionadas con el estudio de la enzimopatía Gl-6-FDH: 814 tests visuales de despistaje, 806 determinaciones de GSH y test de Beutler y 28 determinaciones espectrofotométricas de Gl-6-FDH en el grupo de familias estudiadas, aparte los estudios hematológicos de otra índole o las determinaciones de rutina.

Los métodos utilizados en nuestro estudio han sido los siguientes:

TEST VISUAL DE DESPISTAJE (*Screening Test*, según Motulski, modificado por Tonz y Betke, 202).

Para la detección del defecto en Gl-6-FDH en hematíes en grandes masas de población. Los resultados son semicuantitativos, pero permiten el reconocimiento o al menos presunción de la existencia de homo y heterocigotos.

Reactivos:

- Tris-Puffer 50 mM, pH 7'5.
- Glucosa-6-Fosfato, sal sódica, solución mM.
- TPN, solución 0'65 mM.
- Azul de metileno, solución 10^{-3} M.

Metódica:

En un tubo de 0,5 cm. de diámetro, siempre por partida doble, incluir:

- Hemolizado, 1,0 ml. (sangre citratada o heparinizada, 0,05 en 3 ml. a.d.).
- Puffer, 0,2 ml.
- TPN, 0,1 ml.
- Gl-6-F,Na, 0,1 ml.
- Azul de metileno, 0,25 ml.

Durante 2 minutos, gasear con gas del alumbrado o CO_2 y cerrar herméticamente cada tubo. Incubar a 37° bajo ilumina-

ción de una lámpara de 100 W. situada a una distancia de 10 centímetros de los tubos.

Cronometrar exactamente el tiempo hasta que se produce la decoloración en cada tubo (del color azul pasa de nuevo al color del hemolizado por pasar el azul de metileno a la forma leuco, al ser reducido si existe en el hemolizado Gl-6-FDH).

Valores normales:

Hablaremos de ello tras la exposición de nuestros resultados.

TEST ESPECTROFOTOMÉTRICO (según Kornberg y Horecker, 107).

Hemos utilizado para este proceder los reactivos y tests comerciales de la firma Boehringer & Soehne (Mannheim), que toman el proceder de los autores anteriores. Renunciamos por ello a su descripción.

Proporciona valores cuantitativos, los más exactos. No obstante, por el tiempo y complicación resulta inaplicable para determinaciones en grandes grupos de población.

Ha sido utilizado únicamente en aquellos casos en que el defecto fue plenamente comprobado por otros procedimientos.

Utilizamos un espectrofotómetro Beckman DU, que puso a nuestra disposición la Facultad de Ciencias (prof. dr. F. Capitán).

DETERMINACIÓN DE GLUTATION REDUCIDO (GSH) Y TEST DE BEUTLER

Hemos adoptado para este proceder el método de Gruenert y Philips con la modificación de Beutler (14), así como el test del mismo autor o «test de estabilidad del glutation reducido», consistente en determinar la cuantía de GSH de los hematíes tras someterlos a incubación previa en una solución de acetil-fenil-hidrazina (AFH). Este método, según el autor, permite el reconocimiento de portadores y formas intermedias del defecto enzimático por Gl-6-FDH.

Reactivos:

- Solución de ácido metafosfórico al 2 por 100 y 3 por 100.
- Solución saturada de ClNa.
- ClNa en sustancia.
- Solución de nitroprusiato sódico al 2 por 100 (preparada recientemente).
- Solución de AFH al 5 por 100. Previamente a su uso se depositarán en los tubos a emplear 0,1 c.c. que contienen 5 mgr. de AFH. Dejando evaporar la solución queda el residuo seco en cada tubo que ya se puede utilizar.
- GSH standard (GSH firma Boehringer & Soehne, Mannheim).

Metódica:

Las determinaciones se hacen sobre sangre venosa heparinizada, tomada recientemente antes de las mismas. Se preparan dos tubos (A y B) para cada determinación (el hacerlas por partida doble exigiría demasiada cantidad de sangre). En el tubo B (que contiene los 5 mgr. de AFH) se vierte 1 c. c. de sangre, procurando que la mezcla con AFH sea lo más homogénea posible (si no es así los resultados pueden diferir de una a otra determinación). El tubo B se incuba en estufa a 37° durante dos horas, agitando pasada una hora para asegurar la mezcla. Pasado este tiempo las manipulaciones son exactamente iguales para los tubos A y B.

- Añadir 2 c. c. de agua destilada a cada tubo y dejar pasar 5 minutos hasta comprobar la producción de hemolisis.
- Añadir 5 c. c. de la solución de ácido metafosfórico al 3 por 100 agitando varias veces con varilla para asegurar la mezcla.
- Añadir 3 gr. de ClNa en sustancia y asegurar bien la mezcla.

Ambos tubos se tapan herméticamente y durante diez minutos se agitan sin cesar con ayuda de un agitador mecánico. Pasado este tiempo se filtra el contenido en otro tubo, que debe tener mayor volumen que el anterior. Del filtrado se toman 2 c. c., a

los que se añaden 6 c. c. de solución saturada de ClNa. Ambos tubos (siempre el A y el B) se incuban en baño María a 23° durante 15-20 minutos.

En este baño María se incluyen también:

- Un tubo conteniendo solución de nitroprusiato sódico al 2 por 100.
- Un tubo con solución de cianuro sódico-bicarbonato sódico.
- Un tubo que sirve de blanco y que contiene: 2 c. c. de solución de ácido metafosfórico al 2 por 100 y 6 c. c. de la solución saturada de ClNa.
- Un patrón de GSH.

Pasado el tiempo señalado se procede a las determinaciones: en cada tubo se vierte 1 c. c. de la solución de nitroprusiato sódico y seguidamente 1 c. c. de la solución de cianuro sódico-bicarbonato sódico agitando bien para mezclar. De la mezcla resultante se pasa una cantidad a la cubeta del colorímetro y se mide a onda de 520 micras.

Una solución patrón de GSH debe estar asimismo preparada previamente. Toda la metódica se realiza en una sola sesión, ya que pasadas unas horas los valores de GSH pueden variar sensiblemente.

El cálculo de la cantidad de GSH viene referido a sangre total, por cuyo motivo debe hacerse determinación simultánea de hematocrito, por el cual se divide la cantidad total obtenida.

Todas las lecturas se hicieron en un aparato Spectronic 20, propiedad del Laboratorio de Investigaciones Médicas.

Valores normales:

También nos referiremos más tarde al hacer el comentario de los resultados. Tras dividir por el valor hematocrito, las cifras se refieren a *mgr. por 100 c. c. de hematies.*

V

RESULTADOS EN UN GRUPO DE POBLACION NO HOSPITALIZADA

Fijamos la atención en primer lugar en un grupo constituido por 401 personas clínicamente sanas: médicos, enfermeras, estudiantes de Medicina, donantes de sangre y algunos convalecientes de afecciones leves. Los hemos tomado en consideración en primer lugar para fijar datos en población sana y evitar hipotéticas modificaciones por el influjo de entidades patológicas.

La Gl-6-FDH por *test visual* fue realizada en 354 personas de ambos sexos (170 varones y 175 hembras). La determinación de *GSH en hematíes* en condiciones basales y tras test de Beutler (incubación en AFH) se efectuó en 69 sujetos. De ellos, en 22 se hizo determinación simultánea de GSH, Beutler y Gl-6-FDH.

Los resultados están indicados en las *tablas I, II y III*.

Para la Gl-6-FDH encontramos valores extremos en tiempo de decoloración oscilantes entre 4 y más de 60 minutos. La máxima incidencia o frecuencia con que se produjo este tiempo de decoloración se dio entre los 12 y los 20 minutos, si bien los valores encontrados describen una curva biológica de Gauss perfectamente apreciable si expresamos estos valores gráficamente; y ello tanto en varones como en hembras (véase *gráfica número 1*.)

Teniendo en cuenta resultados posteriormente expuestos *hemos llegado a considerar como normales los comprendidos entre 8 y 32 minutos de decoloración*; y nos atrevemos a considerar como fuera de la normalidad los situados por debajo de 8 minutos (aumento de actividad de Gl-6-FDH) y por encima de 32 minutos (déficit parcial de Gl-6-FDH). Por encima de los 60 minutos debemos considerar que existe un déficit completo de esta actividad enzimática.

Con menos de 4 minutos de decoloración encontramos a

4 sujetos (los 4, varones). Entre 35 y 60 minutos encontramos a 12 personas (5 varones y 7 hembras). Por último, con más de 60 minutos hay 2 hallazgos (los 2, varones). Ninguno de estos sujetos, al ser interrogado, tenía antecedentes personales ni familiares de hemolisis o cuadros de subictericia espontáneos o tras la ingestión de habas verdes o alguna otra sustancia.

El GSH en hematíes se estudió en 69 personas. Las cifras basales dieron valores comprendidos entre 102 y 42 mgr. por 100 c. c. de hematíes. Tras incubación en AFH se produjo una reducción del valor basal hasta del 40 por 100 (en un solo caso).

No hemos encontrado diferencias ostensibles en cuanto a sexo o edad ni en la prueba basal ni tras AFH. Los resultados obtenidos en los primeros 52 casos se expresan gráficamente en las gráficas 1, A y 1, B y 2, A y 2, B.

En 22 de estos sujetos a los que se determinó GSH se hizo estudio simultáneo de Gl-6-FDH. Sus valores de decoloración están comprendidos entre los 11 y 28 minutos.

En resumen: Consideramos valores dentro de la norma para Gl-6-FDH los comprendidos entre 8 y 32 minutos de decoloración; y para el GSH, entre 100 y 40 mgr. por 100 c. c. de hematíes, con una reducción tras incubación en AFH no superior al 40 por 100 respecto a su cifra basal.

TABLA I

ACTIVIDAD GLUCOSA -6- FOSFATO-DEHIDROGENASA (TEST VISUAL) EN POBLACION NO HOSPITALIZADA (ESTUDIANTES, ENFERMERAS, MEDICOS, DONANTES Y VOLUNTARIOS)

N.º	Nombre	Sexo	Edad	Actividad Gl-6-FDH (tiempo de decoloración en minutos)
1.	M. D. M.	H	22	12
2.	F. E. H.	V	32	15
3.	J. F. R.	V	38	No decoloración
4.	C. J. F.	V	31	30
5.	A. C. R.	H	18	14
6.	F. T. V.	V	26	17
7.	J. M. R.	H	18	3
8.	M. F. M.	H	19	12
9.	J. P. G.	V	23	15
10.	A. C. S.	V	24	10
11.	A. N. A.	V	27	15
12.	A. M. M.	V	56	17
13.	T. S. H.	V	22	14
14.	F. R. G.	V	25	25
15.	A. R. A.	V	25	20
16.	J. R. H.	V	21	20
17.	P. Q. M.	V	27	15
18.	J. L. G.	V	50	12
19.	G. G. C.	V	56	17
20.	S. G. R.	V	80	24
21.	J. A. M.	V	26	20
22.	J. A. F.	V	27	20
23.	J. M. T.	V	15	20
24.	R. O. J.	V	40	22
25.	M. P. C.	V	20	17
26.	J. O. S.	V	24	15
27.	J. R. A.	V	58	10
28.	A. B. C.	V	54	20
29.	J. B. A.	V	76	22
30.	A. R. A.	V	26	18
31.	J. F. F.	V	29	20

N.º	Nombre	Sexo	Edad	Actividad Gl-6-FDH (tiempo de decoloración en minutos)
32.	M. P. S.	V	25	17
33.	J. R. S.	V	52	20
34.	M. R. A.	V	59	20
35.	M. R. V.	V	62	11
36.	F. R. E.	V	67	12
37.	A. L. R.	V	53	17
38.	J. G. M.	V	21	20
39.	A. A. M.	V	58	19
40.	L. T. G.	V	63	20
41.	J. S. G.	V	68	18
42.	S. C. A.	V	50	12
43.	C. T. M.	H	34	15
44.	I. R. P.	H	31	20
45.	C. M. O.	H	21	17
46.	L. J. F.	H	75	20
47.	D. M. B.	H	18	12
48.	G. B. B.	H	18	13
49.	I. B. P.	H	42	23
50.	J. M. O.	H	68	14
51.	I. T. G.	H	64	14
52.	I. R. E.	H	52	25
53.	E. A. A.	H	15	12
54.	T. C. R.	H	22	17
55.	M. R. E.	V	30	40
56.	J. V. J.	V	27	25
57.	S. S. L.	V	22	21
58.	F. M. C.	V	67	13
59.	A. V. G.	V	15	13
60.	P. T. E.	V	67	24
61.	D. I. G.	H	30	23
62.	A. C. R.	H	46	22
63.	A. M. L.	H	30	32
64.	M. T. J.	H	27	25
65.	L. U. Z.	H	30	20
66.	D. S. L.	H	26	19
67.	C. S. E.	H	38	12
68.	A. R. L.	H	31	24
69.	M. J. Q.	H	20	25
70.	M. M. M.	H	34	20
71.	D. H. T.	H	75	19
72.	A. F. H.	H	30	16
73.	V. D. M.	H	20	13
74.	C. I. F.	H	54	22
75.	M. G. V.	H	40	26
76.	L. S. A.	V	75	10
77.	J. V. G.	V	25	16

N.º	Nombre	Sexo	Edad	Actividad Gl-6-FDH (tiempo de decoloración en minutos)
78.	M. M. F.	V	62	9
79.	E. L. G.	V	10	10
80.	A. R. H.	V	59	20
81.	M. C. G.	V	25	18
82.	F. R. P.	V	15	20
83.	J. P. M.	V	20	8
84.	A. A. G.	V	64	8
85.	E. F. H.	V	66	8
86.	C. F. A.	H	23	9
87.	A. L. C.	H	63	12
88.	I. R. L.	H	18	10
89.	M. A. V.	V	27	27
90.	S. M. S.	V	23	26
91.	E. R. P.	H	32	31
92.	A. C. S.	V	28	12
93.	A. R. B.	H	21	33
94.	D. T. S.	H	41	26
95.	A. M. V.	H	21	No decoloración
96.	A. M. M.	V	30	24
97.	M. C. S.	H	36	26
98.	F. M. L.	V	55	10
99.	J. M. H.	V	37	15
100.	R. F. G.	V	44	12
101.	M. P. S.	V	29	11
102.	A. R. C.	V	63	12
103.	M. D. M.	H	22	12
104.	A. M. T.	H	40	18
105.	F. C. R.	H	13	13
106.	A. A. R.	H	21	10
107.	J. F. N.	V	31	24
108.	E. O. R.	H	36	22
109.	C. M. C.	H	63	19
110.	M. Q. A.	H	32	15
111.	V. M. L.	H	44	16
112.	M. L. A.	H	11	15
113.	A. R. L.	V	20	11
114.	P. R. M.	H	14	24
115.	P. G. S.	H	60	10
116.	T. D. L.	H	84	10
117.	N. G. R.	H	21	22
118.	A. P. D.	H	36	8
119.	E. T. C.	H	76	20
120.	M. S. A.	H	70	16
121.	D. H. E.	H	18	13
122.	C. S. P.	H	10	8
123.	N. N. R.	V	21	10

N.º	Nombre	Sexo	Edad	Actividad Gl-6-FDH (tiempo de decoloración en minutos)
124.	J. P. D.	V	24	14
125.	S. V. L.	V	25	13
126.	C. C. M.	H	49	5
127.	M. T. S.	H	12	18
128.	A. R. L.	V	20	10
129.	M. V. R.	V	22	17
130.	P. H. T.	V	21	30
131.	A. F. Z.	V	68	27
132.	A. G. D.	V	31	16
133.	A. M. U.	V	29	16
134.	R. D. M.	V	80	8
135.	L. M. I.	V	21	14
136.	C. D. G.	V	34	8
137.	J. N. O.	V	25	15
138.	M. R. S.	V	33	11
139.	J. L. L.	V	41	11
140.	A. P. S.	H	24	10
141.	C. S. N.	H	30	14
142.	A. R. M.	H	40	27
143.	J. V. O.	H	63	17
144.	A. T. M.	V	22	8
145.	F. M. P.	V	10	12
146.	C. F. S.	H	25	26
147.	L. I. G.	V	24	10
148.	J. R. M.	V	23	18
149.	L. C. S.	H	61	17
150.	M. R. G.	V	30	29
151.	A. R. V.	V	40	14
152.	C. G. O.	H	58	17
153.	P. H. T.	H	61	16
154.	D. E. O.	H	78	14
155.	B. P. P.	V	44	21
156.	J. M. G.	V	22	18
157.	C. B. T.	H	51	16
158.	C. G. Q.	V	23	20
159.	M. R. I.	V	24	17
160.	A. G. G.	H	84	16
161.	M. G. C.	V	71	15
162.	M. H. P.	H	49	18
163.	D. G. O.	V	27	20
164.	J. G. M.	V	25	10
165.	A. E. G.	H	18	9
166.	A. S. G.	H	74	14
167.	M. A. R.	V	38	26
168.	J. A. L.	V	14	15
169.	C. M. R.	H	39	16

N.º	Nombre	Sexo	Edad	Actividad Gl-6-FDH (tiempo de decoloración en minutos)
170.	C. O. M.	H	61	13
171.	C. M. T.	H	25	30
172.	M. E. M.	H	31	30
173.	G. C. O.	H	44	24
174.	J. C. Q.	V	27	16
175.	E. T. M.	H	70	14
176.	A. M. G.	H	15	17
177.	E. F. M.	V	27	13
178.	C. D. D.	H	51	15
179.	A. B. L.	V	15	22
180.	M. M. C.	V	30	15
181.	P. R. E.	H	32	19
182.	M. L. F.	H	47	20
183.	E. A. T.	H	64	45 (<i>dudosa</i>)
184.	M. L. D.	H	51	25
185.	I. C. S.	V	18	24
186.	R. A. P.	V	40	21
187.	C. O. H.	H	19	12
188.	N. T. O.	H	69	20
189.	I. G. H.	H	54	20
190.	M. S. R.	V	25	11
191.	T. I. Q.	V	63	16
192.	G. H. D.	H	54	13
193.	F. P. G.	V	88	16
194.	M. M. P.	H	40	20
195.	A. P. P.	H	36	24
196.	N. E. M.	V	53	19
197.	A. M. V.	H	4	34
198.	E. P. S.	H	27	20
199.	E. S. D.	H	34	27
200.	A. C. M.	H	43	22
201.	A. G. I.	H	37	20
202.	J. M. M.	V	21	10
203.	N. O. V.	V	12	15
204.	M. T. F.	V	23	17
205.	R. A. R.	H	25	22
206.	M. R. P.	H	18	30
207.	S. M. D.	V	40	10
208.	F. M. P.	V	23	14
209.	L. R. I.	V	21	18
210.	P. L. C.	V	33	13
211.	M. P. J.	V	44	18
212.	A. V. L.	H	62	15
213.	J. C. N.	V	75	40
214.	R. P. S.	H	31	10

N.º	Nombre	Sexo	Edad	Actividad Gl-6-FDH (tiempo de decoloración en minutos)
215.	C. M. O.	H	22	15
216.	D. H. R.	H	58	15
217.	L. A. Q. L.	H	37	40 (incompleta)
218.	A. M. G.	H	64	16
219.	J. R. J.	V	29	10
220.	F. P. L.	V	25	24
221.	D. V. D.	V	19	22
222.	B. M. S.	V	25	20
223.	F. P. P.	V	41	25
224.	T. L. I.	H	38	15
225.	C. C. P.	H	11	17
226.	J. H. G.	V	21	10
227.	C. H. A.	H	40	10
228.	A. B. O.	V	23	21
229.	M. P. G.	H	31	20
230.	M. G. L.	H	1 mes	16
231.	B. C. S.	H	19	18
232.	J. J. C.	V	22	28
233.	J. V. A.	V	20	40
234.	I. T. A.	H	33	35
235.	J. M. R.	V	23	24
236.	C. O. A.	V	21	15
237.	M. G. M.	H	41	55 (incompleta)
238.	R. J. M.	V	20	14
239.	A. H. P.	H	39	11
240.	D. M. M.	H	28	18
241.	J. L. D.	V	23	22
242.	J. A. H.	V	22	38
243.	R. M. V.	V	23	40
244.	E. S. R.	H	44	25
245.	M. T. O.	V	21	32
246.	C. A. H.	H	23	14
247.	J. M. E.	V	21	25
248.	C. P. M.	H	18	20
249.	J. R. I.	H	40	30
250.	S. G. V.	V	20	22
251.	E. G. E.	H	42	20
252.	J. R. V.	V	21	19
253.	R. A. P.	V	20	14
254.	P. F. E.	H	20	19
255.	C. H. M.	H	33	18
256.	E. S. O.	H	28	14
257.	J. H. S.	H	63	25
258.	M. Z. U.	H	52	30
259.	J. I. D.	V	23	11
260.	M. R. B.	V	27	20

N.º	Nombre	Sexo	Edad	Actividad Gl-6-FDH (tiempo de decoloración en minutos)
261.	V. M. Q.	H	43	23
262.	N. R. N.	H	48	30
263.	A. C. P.	V	51	30
264.	J. R. L.	V	22	25
265.	A. R. D.	H	41	29
266.	A. M. E.	H	32	25
267.	C. R. T.	H	40	22
268.	C. O. O.	H	24	23
269.	M. G. R.	V	20	30
270.	M. T. F.	H	18	26
271.	G. M. L.	V	23	30
272.	J. M. M.	V	20	25
273.	A. A. N.	V	23	21
274.	F. G. M.	H	34	25
275.	L. M. N.	V	21	24
276.	C. G. C.	H	41	40
277.	D. M. A.	H	30	22
278.	E. C. J.	H	23	20
279.	A. Q. R.	H	61	25
280.	A. H. E.	V	20	30
281.	A. J. E.	H	44	22
282.	C. G. O.	H	52	25
283.	D. M. J.	V	21	15
284.	E. C. E.	V	23	20
285.	A. Q. N.	V	21	25
286.	A. H.	V	23	30
287.	J. F. L.	V	20	20
288.	A. M. A.	H	60	27
289.	A. R. G.	V	24	20
290.	C. V. L.	H	6 meses	8
291.	F. M. A.	V	22	30
292.	E. S. C.	H	66	8
293.	S. A. P.	H	28	32
294.	R. R. G.	H	36	0
295.	R. C. G.	H	39	8
296.	C. A. M.	H	43	17
297.	C. N. A.	H	40	9
298.	N. R. F.	H	63	10
299.	J. S.	H	40	10
300.	M. M. G.	H	33	8
301.	D. D. C.	H	18	26
302.	M. F. G.	H	19	25
303.	V. A. M.	H	20	25
304.	M. T. V.	H	35	16
305.	S. G. M.	H	58	6
306.	M. F. R.	V	35	9

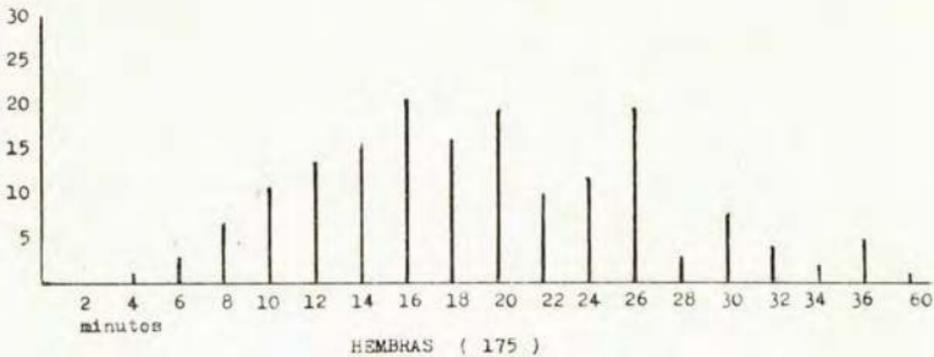
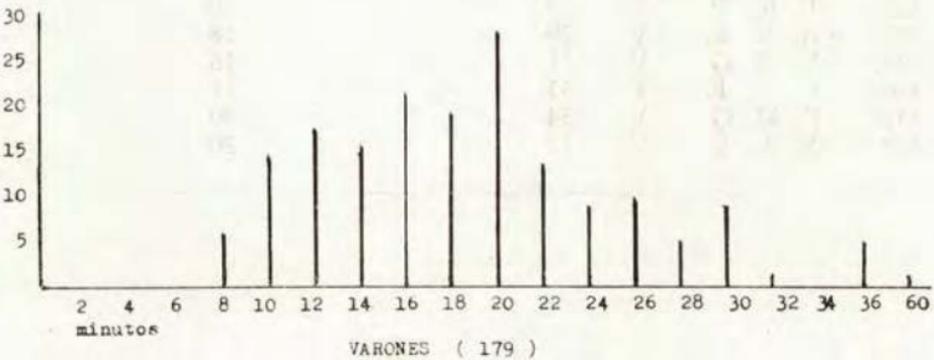
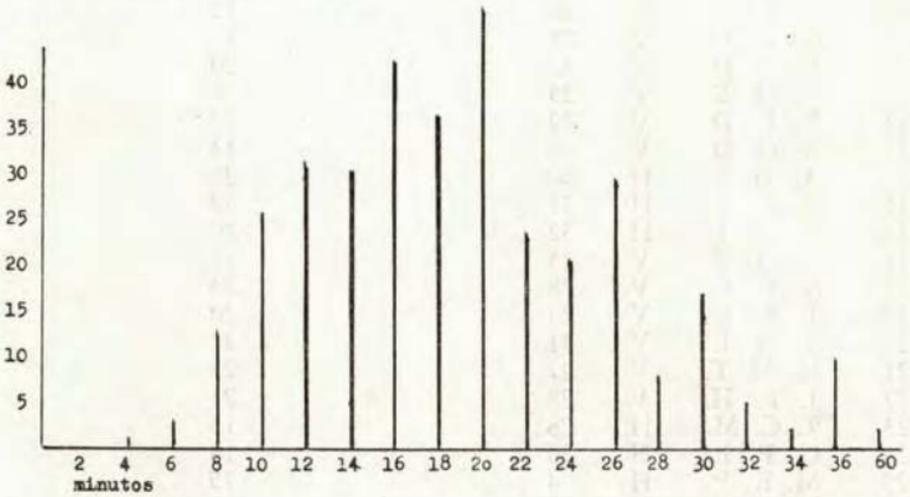
N.º	Nombre	Sexo	Edad	Actividad Gl-6-FDH (tiempo de decoloración en minutos)
307.	T. M. G.	H	19	26
308.	A. F. G.	V	20	12
309.	G. I. D.	V	21	15
310.	F. G. D.	V	30	20
311.	N. M. E.	V	25	28
312.	E. E. D.	V	22	20
313.	A. G. D.	V	20	13
314.	A. D. I.	H	40	26
315.	E. E. A.	H	31	32
316.	A. J. I.	H	32	20
317.	J. Q. P.	V	25	18
318.	S. F. C.	V	28	23
319.	J. R. C.	V	24	20
320.	S. M. E.	V	31	22
321.	M. M. T.	V	27	25
322.	J. F. H.	V	28	21
323.	T. C. M.	H	28	15
324.	C. P. L.	H	30	18
325.	M. R. P.	H	4	15
326.	M. A. R.	H	3	15
327.	J. R. P.	V	2	20
328.	A. B. B.	V	29	18
329.	F. H. G.	V	31	16
330.	F. A. F.	V	33	18
331.	F. M. G.	V	34	20
332.	N. L. C.	V	32	20

GRAFICA 1

ACTIVIDAD GLUCOSA-6-FOSFATO-DEHIDROGENASA EN UN GRUPO DE POBLACION NO HOSPITALARIA (354 PERSONAS)

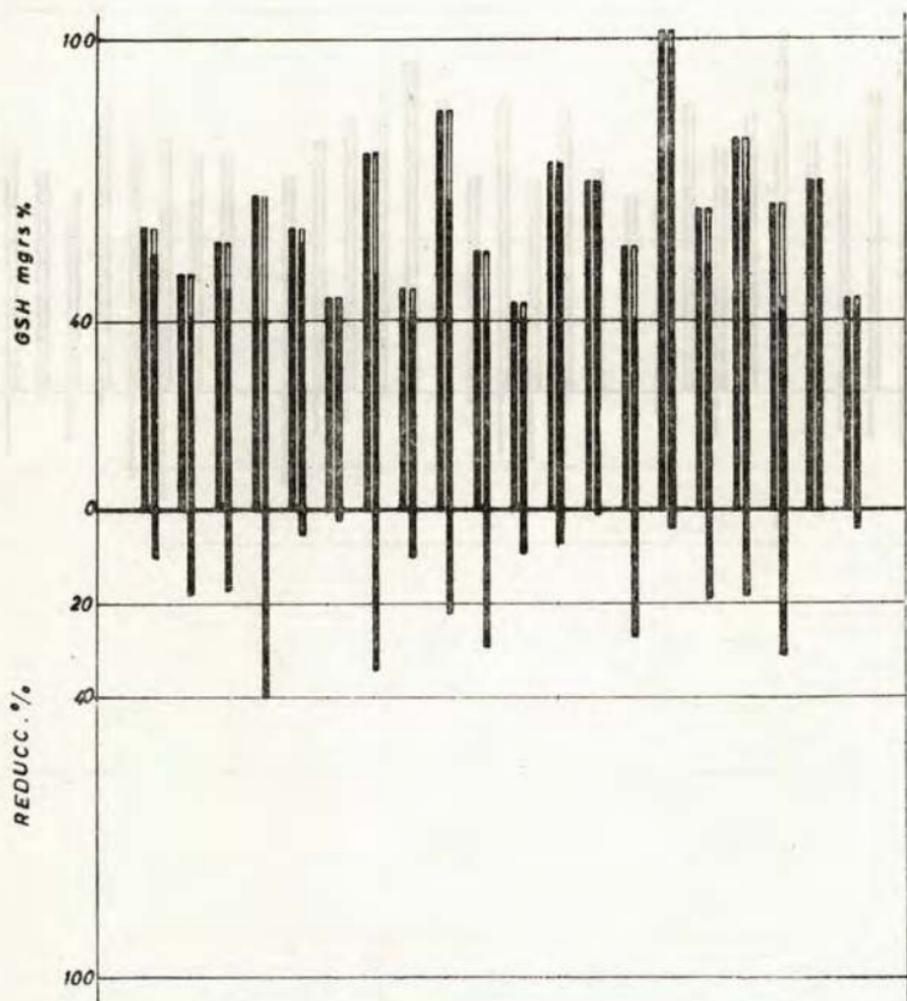
Ordenadas: tiempo de decoloración en minutos.

Abscisas: número de personas.



GRAFICA 1, A

RESULTADOS DE DETERMINACION DE GSH EN HEMATIES EN CONDICIONES BASALES Y TRAS AFH EN 20 VARONES



GRAFICA 1, B

RESULTADOS DE DETERMINACION DE GSH EN HEMATIES EN
CONDICIONES BASALES Y TRAS AFH EN 32 MUJERES

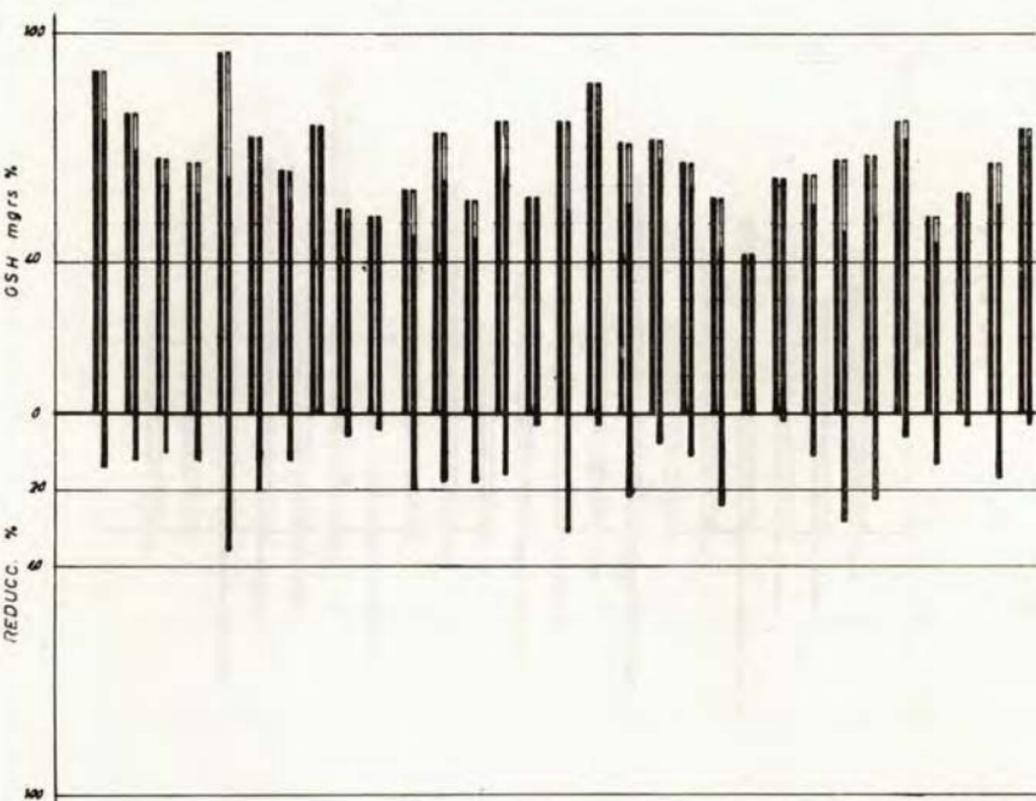


TABLA II

ACTIVIDAD GLUCOSA - 6 - FOSFATO - DEHIDROGENASA (TEST VISUAL), GLUTATION REDUCIDO Y TEST DE BEUTLER (TRAS INCUBACION EN ACETIL-FENIL-HIDRAZINA) EN POBLACION NO HOSPITALARIA

N.º	Nombre	Sexo	Edad	Tiempo de decoloración (en minutos)	GSH basal (en mgr. por 100 c. c. de hematies)	Beutler	Reducción %
1.	F. P. G.	V	42	14	53	41	23
2.	J. S. M.	V	63	12	102	98	4
3.	J. R. O.	V	11	17	64	59	8
4.	A. M. S.	V	22	15	63	61	3
5.	R. M. M.	V	60	13	57	39	32
6.	A. S. G.	V	76	12	87	84	4
7.	F. R. R.	H	37	11	66	65	2
8.	A. M. L.	H	17	21	54	52	4
9.	C. M. A.	H	55	24	81	71	13
10.	M. G. G.	H	15	11	46	46	0
11.	N. B. M.	H	51	13	70	66	6
12.	R. E. R.	H	26	17	38	34	10
13.	A. R. V.	H	16	18	55	45	18
14.	E. J. M.	H	22	12	42	42	0
15.	J. R. S.	H	45	11	57	55	4
16.	E. S. N.	V	54	22	57	47	18
17.	E. P. S.	H	40	23	97	81	18
18.	J. J. J.	H	50	12	75	70	7
19.	S. Q. A.	H	40	24	72	70	3
20.	I. P. C.	H	27	24	45	42	7
21.	C. F. S.	V	30	11	67	40	40
22.	J. H. H.	V	22	28	53	44	17

TABLA III

GLUTATION REDUCIDO Y TEST DE BEUTLER (TRAS INCUBACION EN ACETIL-FENIL-HIDRAZINA) EN POBLACION NO HOSPITALARIA

N.º	Nombre	Sexo	Edad	GSH Basal (en mgr. por 100 c. c. de hematies)	Beutler	Reducción %
1.	S. R. M.	V	24	60	54	10
2.	J. I. R.	V	15	50	41	18
3.	J. H. H.	V	7	57	47	18
4.	J. I. R.	V	73	60	57	5
5.	F. G. M.	V	10	45	44	2
6.	J. G. A.	V	28	76	50	34
7.	L. M. H.	V	48	47	42	11
8.	A. L. P.	V	32	85	66	22
9.	F. F. T.	V	40	55	39	29
10.	F. M. E.	V	48	44	40	9
11.	J. B. G.	V	12	74	69	7
12.	P. C. P.	V	64	70	69	2
13.	F. L. G.	V	62	54	40	29
14.	C. G. J.	V	38	64	52	19
15.	J. A. M.	V	23	79	65	18
16.	A. S. F.	V	70	65	45	31
17.	A. S. P.	V	23	70	70	0
18.	J. C. C.	V	45	45	43	4
19.	R. M. R.	H	33	90	77	15
20.	I. S. M.	H	30	79	69	13
21.	E. S. F.	H	64	67	60	10
22.	M. S. M.	H	48	66	58	12
23.	P. E. E.	H	30	73	58	20
24.	A. H. H.	H	14	95	62	35
25.	H. B. G.	H	15	64	56	13
26.	D. C. A.	H	19	76	76	0
27.	M. E. G.	H	17	54	51	6
28.	V. A. N.	H	20	52	50	4
29.	M. R. A.	H	20	59	47	20
30.	A. C. M.	H	18	74	61	18
31.	A. F. M.	H	47	56	46	18
32.	L. T. M.	H	19	77	65	16
33.	M. L. H.	H	61	77	53	31
34.	A. G. S.	H	76	87	84	4
35.	D. F. R.	H	65	71	55	23
36.	E. G. R.	H	26	72	67	7
37.	I. L. M.	H	44	66	59	11
38.	M. V. M.	H	48	57	43	25

N.º	Nombre	Sexo	Edad	GSH Basal (en mgr. por 100 c. c. de hematies)	Beutler	Reducción %
39.	C. R. F.	H	65	62	61	2
40.	M. F. R.	H	32	63	55	13
41.	E. F. R.	H	29	67	48	29
42.	M. N. I.	H	66	68	52	24
43.	M. G. F.	H	67	77	72	7
44.	E. M. M.	H	16	52	45	14
45.	A. M. M.	H	17	58	56	4
46.	A. P. R.	H	74	71	60	16
47.	C. M. P.	H	54	85	83	3

VI

RESULTADOS EN PACIENTES CON HEPATOPATIAS DE DIVERSA INDOLE

Se recogen aquí 56 personas afectas de hepatopatías de índole diversa, de las cuales 34 eran varones y 22 hembras. Los cuadros patológicos que padecían eran, concretamente: hepatitis viral epidémica (5), hepatitis sérica (4), hepatitis de evolución crónica (1), hepatitis tóxica (2), cirrosis portal tipo Laennec (24, compensada en 12 y descompensada en otros 12), cirrosis post-hepatitis (5), cirrosis biliar primaria (2), cirrosis biliar secundaria (2), cirrosis esplenomegálica (3), hemocromatosis (4), síndrome de Banti (2), enfermedad de Wilson (degeneración hepatolenticular, 1) y cirrosis cardíaca (1).

El test visual fue efectuado en 22 personas. GSH y Beutler se determinó en 45 personas. Los resultados vienen expresados en la *tabla IV*. La actividad Gl-6-FDH se encontró con valores extremos entre 6 y 39 minutos de decoloración. Por debajo de los 8 minutos encontramos una sola determinación (6 minutos en un varón con hemocromatosis). Por encima de 32 minutos se hallaron 2 sujetos (varones, portadores de sendos cuadros de cirrosis portal). No hubo ninguno entre estos enfermos con ausencia de decoloración pasados los 60 minutos.

Las determinaciones de GSH mostraron cifras bajas en general, ya en los valores basales. Remitimos a las correspondientes *gráficas 2 A y B*, donde están expresados estos extremos en forma visual.

Llama ya la atención que encontráramos cifras basales de GSH por debajo de 40 miligramos por 100 en 10 enfermos (1 con hepatitis viral epidémica y 9 cirróticos). Por otra parte, tras el test de Beutler se produjo una reducción superior al 40 por 100 respecto a la cifra basal en 7 personas (1 con una hepatitis viral que tenía cifra basal normal, y 6 portadores de cirrosis de filiación diversa). Sólo en una ocasión se dio la coincidencia

de que ya previamente existieran valores bajos de GSH basal y que tras la AFH hubiera una reducción superior al 40 por 100

Extraemos como resumen de este apartado una conclusión: *Que al menos en este tipo de enfermos puede haber cifras de GSH bajas correspondiendo con valores normales o elevados de Gl-6-FDH; y que no existe una correlación entre las cifras basales de GSH y el tanto por ciento de reducción tras la incubación de los hematíes de estos enfermos en AFH.*

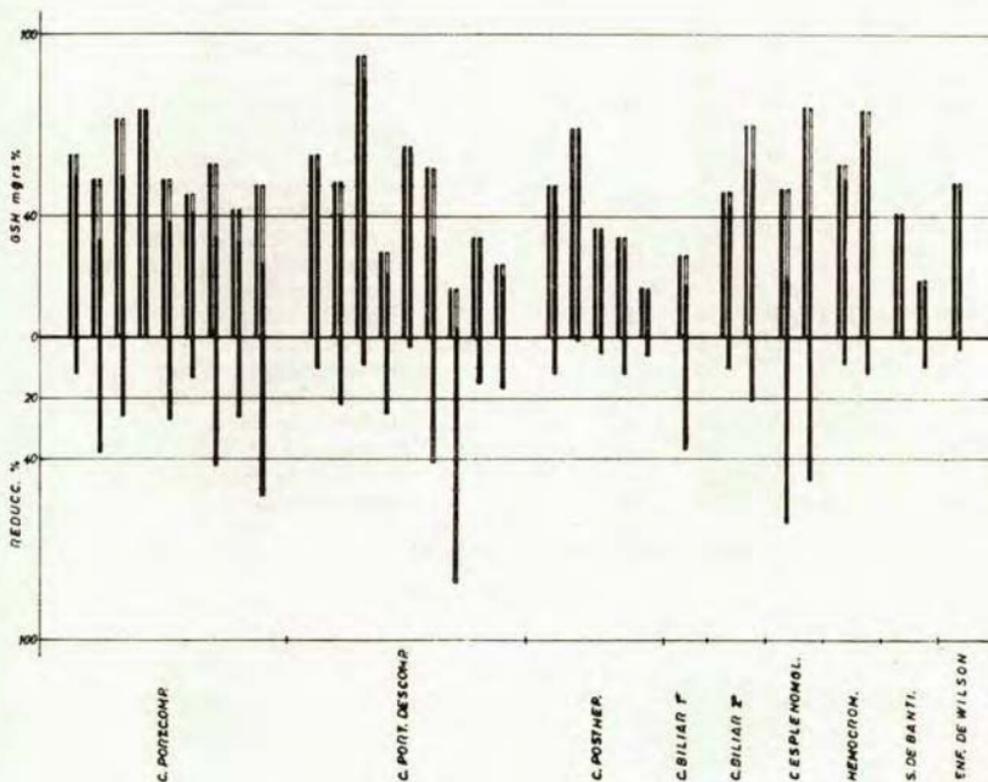
TABLA IV

GLUCOSA-6-FOSFATO-DEHIDROGENASA (TEST VISUAL),
GLUTATION REDUCIDO Y TEST DE BEUTLER
(TRAS INCUBACION EN AFH) EN PACIENTES
CON HEPATOPATIAS

N.º	Nombre	S.	Edad	Gl-6- FDH (min.)	GSH (mgr. de hematies)	AFH % c. c.	Diagnóstico
1.	F. C. R.	V	46		50	35	Hepatitis viral epidémica.
2.	C. D. M.	H	64		53	50	Hepatitis viral epidémica.
3.	C. F. V.	H	19		64	54	Hepatitis viral epidémica.
4.	T. N. P.	H	79		101	52	Hepatitis viral epidémica.
5.	M. G. J.	V	48		22	22	Hepatitis viral epidémica.
6.	I. H. M.	H	48		53	41	Hepatitis sérica.
7.	A. I. B.	V	65		56	50	Hepatitis sérica.
8.	J. M. J.	V	47	13	49	41	Hepatitis sérica.
9.	E. Y. R.	V	56		48	42	Hepatitis sérica.
10.	F. M. A.	V	54		50	44	Hepatitis crónica.
11.	C. R. R.	H	77	11	92	88	Hepatitis tóxica.
12.	E. G. P.	H	44		50	40	Hepatitis tóxica.
13.	J. M. E.	V	48	39			Cirrosis portal compensada.
14.	J. A. F.	V	49	21			Cirrosis portal. Diabetes.
15.	A. R. E.	V	57	25			Cirrosis portal. Diabetes.
16.	J. A. O.	V	48	30	52	32	Cirrosis portal compensada.
17.	A. R. F.	V	57	38	60	53	Cirrosis portal compensada.
18.	E. V. H.	V	52		72	53	Cirrosis portal compensada.
19.	T. M. M.	V	62	10	75	75	Cirrosis portal compensada.
20.	I. R. A.	V	59		52	38	Cirrosis portal compensada.
21.	M. S. B.	V	63		47	41	Cirrosis portal compensada.
22.	J. A. S.	V	53		57	33	Cirrosis portal compensada.
23.	M. M. S.	V	68	27	42	31	Cirrosis portal compensada.
24.	R. S. M.	V	52		50	24	Cirrosis portal compensada.
25.	F. M. C.	V	53		60	55	Cirrosis portal descompensada.
26.	B. C. C.	H	40	21			Cirrosis portal descompensada.
27.	A. B. A.	H	39	23			Cirrosis portal descompensada.
28.	A. A. M.	H	55	25			Cirrosis portal descompensada.
29.	D. G. R.	H	59	28	56	33	Cirrosis portal descompensada.
30.	F. J. M.	V	43		93	85	Cirrosis portal descompensada.
31.	L. I. C.	V	66		28	21	Cirrosis portal descompensada.
32.	M. G. Q.	V	60	10	63	61	Cirrosis portal descompensada.
33.	M. R. S.	V	66		56	33	Cirrosis portal descompensada.
34.	J. G. A.	V	49		16	3	Cirrosis portal descompensada.
35.	E. S. M.	H	66		33	28	Cirrosis portal descompensada.
36.	C. M. C.	H	54		24	20	Cirrosis portal descompensada.
37.	J. O. R.	V	43		50	44	Cirrosis posthepatitis.

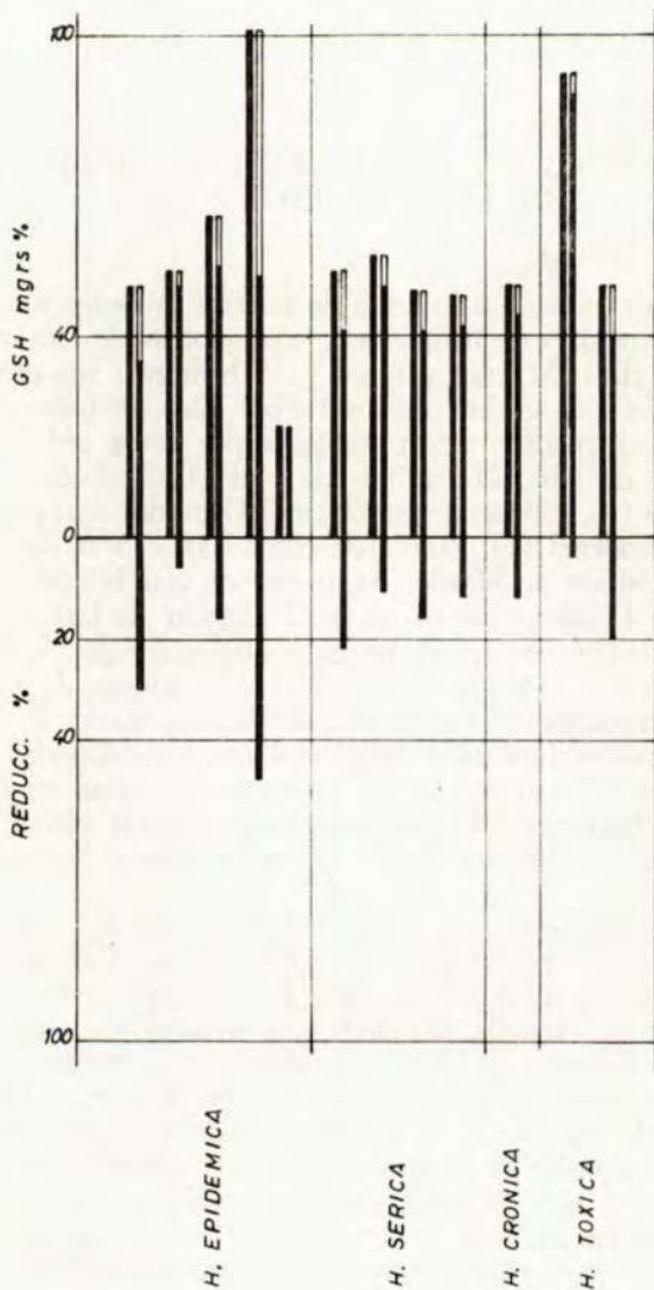
N.º	Nombre	S.	Edad	Gl-6-FDH (min.)	GSH (mgr. de hematies)	AFH (% c. c.)	Diagnóstico
38.	J. C. R.	V	33		69	68	Cirrosis posthepatitis.
39.	D. J. J.	H	41	8	36	34	Cirrosis posthepatitis.
40.	I. A. C.	H	54		33	29	Cirrosis posthepatitis.
41.	M. E. L.	V	52		16	15	Cirrosis posthepatitis.
42.	A. P.	H	62		27	17	Cirrosis biliar primaria.
43.	F. C. E.	V	36	34			Cirrosis biliar primaria.
44.	M. L. S.	H	52		48	43	Cirrosis biliar secundaria.
45.	B. M. C.	H	58		70	55	Cirrosis biliar secundaria.
46.	F. B. E.	H	26		49	19	Cirrosis esplenomegálica. Anemia sideroacréstica.
47.	F. R. N.	H	66	25	76	40	Cirrosis esplenomegálica.
48.	E. C. R.	V	41	32			Cirrosis esplenomegálica. Anemia hemolítica.
49.	E. G. F.	V	34	8	57	52	Hemocromatosis.
50.	C. J. F.	H	48		75	66	Hemocromatosis.
51.	F. A. R.	V	34	6			Hemocromatosis. Alcoholismo.
52.	M. B. S.	V	55	15			Probable hemocromatosis.
53.	F. P. S.	V	16		41	41	Síndrome de Banti.
54.	L. J. G.	H	44		51	49	Enfermedad de Wilson.
55.	S. B. I.	V	25		19	17	Síndrome de Banti.
56.	C. A. R.	H	50	9			Cirrosis cardíaca.

GRAFICA 2, A
 REPRESENTACION DE LOS VALORES DE GSH BASAL
 Y TRAS AFH EN HEMATIES EN 33 PACIENTES
 CON CIRROSIS HEPATICA



GRAFICA 2, B

REPRESENTACION DE LOS VALORES DE GSH BASAL Y TRAS AFH EN HEMATIES EN 12 PACIENTES CON HEPATITIS DE DIVERSA FILIACION



VII

RESULTADOS EN PACIENTES CON MALIGNOMAS DE LOCALIZACION VARIA

Hemos estudiado a lo largo de nuestra investigación a 61 pacientes portadores de neoplasias o malignomas de localización diversa. De ellos, 31 eran varones y 30 hembras. Sus edades estaban situadas por encima de los treinta años en todos los casos. Los tipos de neoformación padecida por estos enfermos eran: epiteloma de labio (1), tumor de suelo de la boca (1), cáncer de esófago (1), cáncer de estómago (14), tumor maligno de localización duodenal (1), cáncer de colon (3), cáncer de recto (1), cáncer primitivo de hígado (3), tumor de vías biliares y ampolla de Vater (4), tumor de páncreas (2), cáncer de laringe (3), cáncer de pulmón (6), carcinoma de cuello o cuerpo de útero (7), mioma uterino (1), cáncer de vulva (1), cáncer de mama (6), cáncer de tiroides (2), tumor de coroides (1), cáncer de vejiga (2) y epiteloma espinocelular facial (1). Las reticulopatías malignas y afecciones hematológicas neoformativas se tratan en otro capítulo. Se efectuaron 28 determinaciones de test visual y 46 de GSH y test de Beutler, todas las cuales figuran indicadas en la *tabla V*.

Con respecto al *test visual* hemos encontrado aquí tiempos de decoloración por debajo de 8 minutos en 3 casos (2 cáncer de estómago y 1 tumor de vías biliares), en todos los cuales existía intensa anemia. Es decir, en ellos existía una actividad Gl-6-FDH aumentada. Encontramos asimismo un caso con 40 minutos (una mujer portadora de un cáncer de mama). Por último, es digno de resaltar aquí *la existencia de dos pacientes con un tiempo de coloración superior a los 60 minutos*. Uno de ellos (mujer, con cáncer de estómago) negó cualquier antecedente personal o familiar en relación con la clínica del déficit de Gl-6-FDH. En cambio, en el otro (un varón con epiteloma laríngeo recientemente operado) afirmó haber tenido en un par de ocasiones

crisis hematóricas tras la ingestión de habas verdes. Eran 8 hermanos en su familia y en uno de ellos se daba el mismo fenómeno. Este caso será reconsiderado más adelante.

Las determinaciones de GSH revelaron 7 casos con cifra basal menor de 40 miligramos. Una reducción del GSH tras test de Beutler se encontró en 6 personas, sin disminución concomitante de la actividad Gl-6-FDH. Incluso en un caso había cifras de 28 miligramos y 10 miligramos (basal y tras AFH) coincidiendo con test visual de seis minutos (véanse *gráficas 3 A y B*).

TABLA V

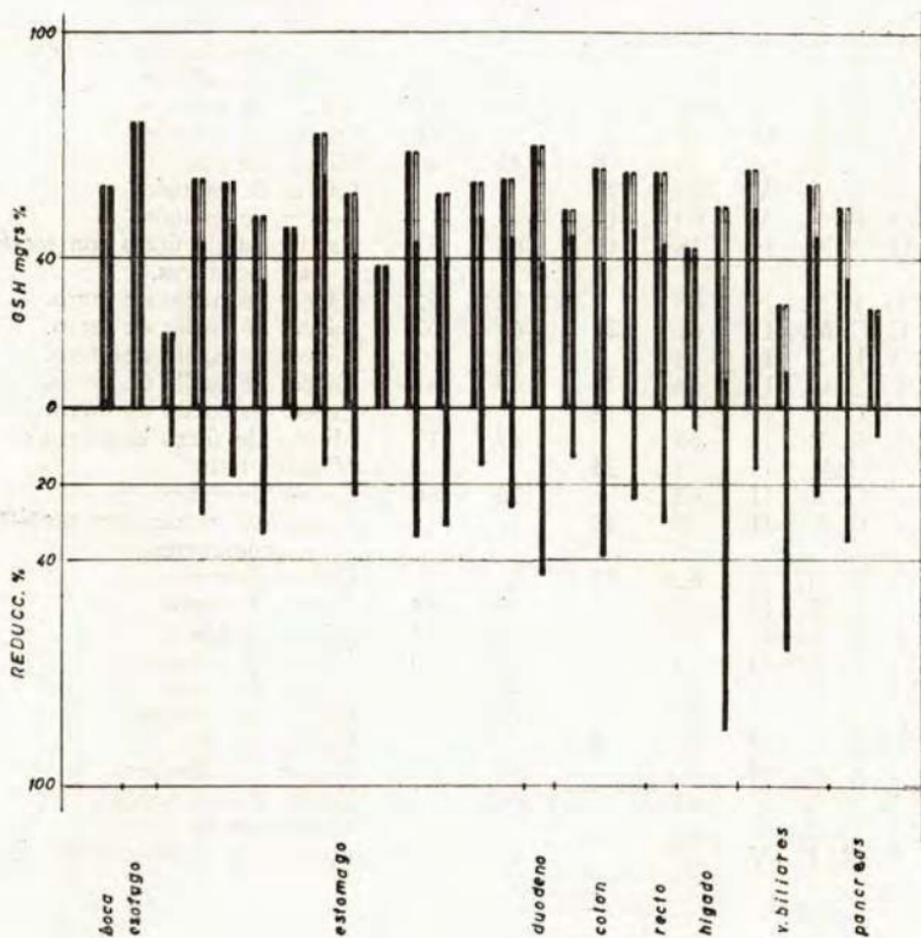
GLUCOSA-6 FOSFATO-DEHIDROGENASA (TEST VISUAL), GLUTATION REDUCIDO Y TEST DE BEUTLER (TRAS INCUBACION EN ACETIL-FENIL-HIDRAZINA) EN PACIENTES CON MALIGNOMAS DE DIVERSA INDOLE

N.º	Nombre	S.	Edad	Gl-6-FDH (min.)	GSH (mgr. de hematies)	AFH (% c. c.)	Diagnóstico
1.	J. R. P.	V	55	11			Epitelioma espinocelular de labio.
2.	A. A. B.	V	59		59	59	Tumor de suelo de la boca.
3.	J. S. C.	H	74	11	76	76	Cáncer de esófago.
4.	M. M. B.	V	57	9	20	18	Cáncer de estómago.
5.	B. I. M.	V	59		61	44	Cáncer de estómago.
6.	T. F. S.	H	64	7	60	49	Cáncer de estómago.
7.	J. S. L.	V	58		51	34	Cáncer de estómago.
8.	E. P. H.	H	52		48	47	Cáncer de estómago.
9.	J. M. V.	V	38	7	73	62	Cáncer de estómago.
10.	M. J. O.	V	66		57	44	Cáncer de estómago.
11.	M. I. A.	V	57		38	38	Cáncer de estómago.
12.	J. M. M.	V	69		68	45	Cáncer de estómago.
13.	R. M. M.	V	54	12	57	39	Cáncer de estómago.
14.	F. A. M.	H	63		60	51	Cáncer de estómago. Metástasis hepáticas.
15.	M. M. R.	H	74	No dec.			Cáncer de estómago. Monoartritis.
16.	J. C. G.	V	62	11			Cáncer de estómago. Estenosis pilórica.
17.	J. S. E.	V	69		61	45	Cáncer de antro.
18.	F. F. H.	V	72		70	39	Tumor maligno duodenal.
19.	N. C. C.	V	75		75	46	Cáncer de colon.
20.	C. E. R.	H	64	30	64	39	Cáncer de colon.
21.	M. M. A.	H	62		63	48	Cáncer de colon.
22.	D. M. M.	H	66		63	44	Cáncer de recto.
23.	J. M. L.	V	60		43	41	Cáncer primitivo de hígado.
24.	H. G. H.	V	30		54	8	Cáncer primitivo de hígado.
25.	S. E. M.	V	63	25			Cáncer primitivo de hígado.
26.	P. F. V.	V	67	11	64	54	Tumor de vías biliares.
27.	M. N. R.	H	70	6	28	10	Tumor de vías biliares.
28.	R. S. E.	H	66	9			Tumor de vías biliares.
29.	L. L. L.	V	69		60	46	Tumor de ampolla de Vater.
30.	J. M. S.	V	78		54	35	Carcinoma de cuerpo de páncreas.
31.	J. G. O.	V	74		27	25	Tumor pancreático.

N.º	Nombre	S.	Edad	Gl-6-FDH (min.)	GSH (mgr. de hematies)	AFH (% c.c.)	Diagnóstico
32.	P. R. A.	V	67	20	45	42	Epitelioma laríngeo.
33.	J. L. M.	V	65	11			Cáncer de laringe.
34.	J. V. R.	V	67	<i>No dec.</i>			Epitelioma laríngeo. Favismo (1).
35.	A. A. A.	V	59		84	65	Cáncer de pulmón.
36.	A. C. C.	V	64		30	18	Cáncer de pulmón.
37.	C. M. N.	H	65		74	71	Cáncer de pulmón.
38.	D. L. H.	V	65	8	45	40	Cáncer de pulmón.
39.	M. G. L.	V	56	23			Cáncer de pulmón.
40.	A. R. P.	V	60	14			Cáncer de pulmón.
41.	O. M. M.	H	38	10	68	31	Carcinoma de útero con metástasis hepáticas.
42.	D. E. S.	H	66		32	25	Cáncer de cuello de útero.
43.	C. C. M.	H	67	25	63	52	Cáncer de cuello de útero.
44.	A. E. R.	H	38		65	63	Cáncer de cuello de útero.
45.	L. G. G.	H	38	24	65	41	Cáncer de cuello de útero.
46.	M. G. V.	H	47	12			Cáncer de cuello de útero.
47.	L. R. B.	H	66		47	17	Mioma de útero degenerado.
48.	T. M. M.	H	42	23			Mioma uterino.
49.	A. O. R.	H	62		76	66	Cáncer de vulva.
50.	E. C. R.	H	59	43			Cáncer de mama con metástasis pulmonares.
51.	A. M. M.	H	62	21			Cáncer de mama.
52.	G. O. D.	H	43		58	53	Cáncer de mama.
53.	J. P. R.	H	62		62	53	Cáncer de mama.
54.	M. F. G.	H	43		29	20	Cáncer de mama.
55.	A. G. R.	H	61		47	28	Cáncer de mama.
56.	C. O. C.	H	65		68	51	Cáncer de tiroides.
57.	D. B. G.	H	47	8			Cáncer de tiroides.
58.	A. R. M.	H	60		63	55	Tumor de coroides.
59.	A. S. S.	H	65		68	53	Carcinoma de vejiga.
60.	J. V. P.	V	66	12			Carcinoma de vejiga.
61.	R. G. F.	V	67		73	60	Epitelioma espinocelular facial.

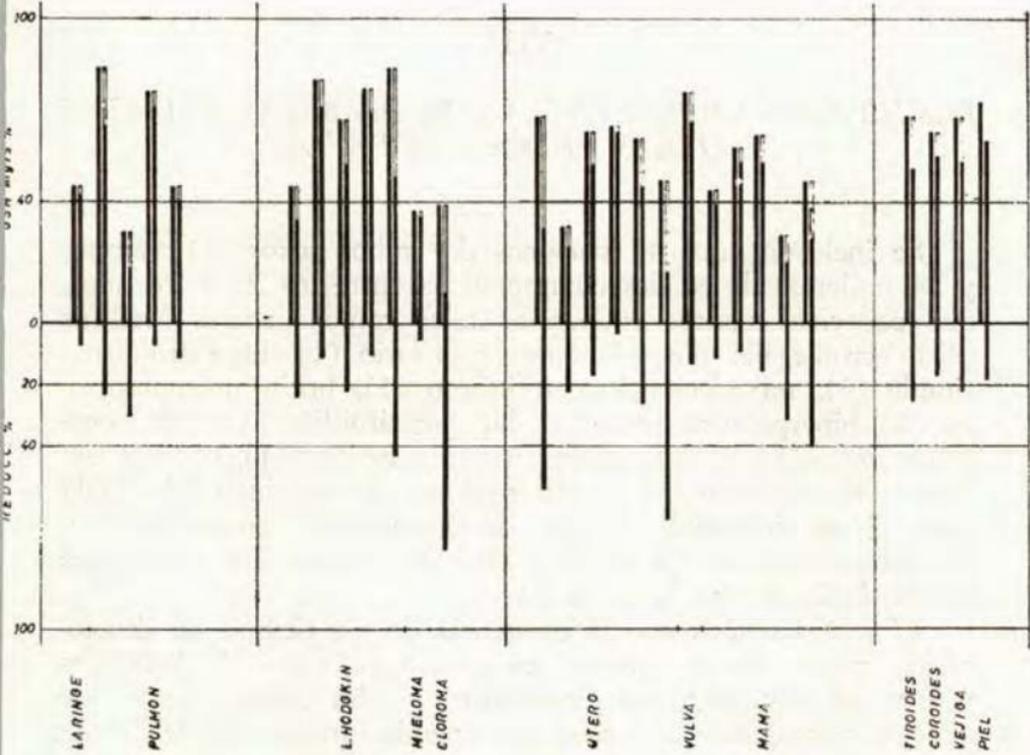
GRAFICA 3, A

REPRESENTACION DE VALORES DE GSH BASAL Y TRAS AFH (TEST DE BEUTLER) EN 26 PACIENTES CON TUMORES MALIGNOS DE APARATO DIGESTIVO



GRAFICA 3, B

REPRESENTACION DE VALORES DE GSH BASAL Y TEST DE BEUTLER EN 28 PACIENTES CON TUMORES MALIGNOS DE LOCALIZACION DIVERSA



(En esta gráfica están incluidos 7 pacientes con afecciones malignas de A.R.E., incluidos en la casuística de afecciones hematológicas más adelante.)

VIII

RESULTADOS EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS Y OTRAS ENDOCRINOPATIAS

Se incluyen aquí 45 personas de ambos sexos (11 varones y 34 mujeres) de edades comprendidas entre los 22 y 78 años, que padecían cuadros endocrinos tales como diabetes Mellitus (27), acromegalia por adenoma hipofisario (1), hipertiroidismo simple (3), mixedema (2), cretinismo (1), bocio normofuncional (4), hiperparatiroidismo (3), hipoparatiroidismo (3), síndrome climatérico (2) y pseudohermafroditismo masculino (1). En estos enfermos se realizaron 36 determinaciones de actividad Gl-6-FDH (test visual, indicando tiempo de decoloración en minutos) y 27 determinaciones de GSH y test de Beutler. Los resultados vienen indicados en la *tabla VI*.

El *test visual* reveló la existencia de un tiempo de decoloración menor de 8 minutos en cuatro personas (3 diabéticos y 1 mujer con síndrome climatérico), de las cuales, en una de ellas, el hemograma mostraba una anemia intensa (2.000.000 de hematíes, no caracteres anormales morfológicos) (caso núm. 3).

Es de destacar el hallazgo de *un nuevo caso con tiempo de decoloración superior a los 60 minutos* (núm. 8, varón de 65 años, con diabetes Mellitus). No pudimos recoger antecedentes personales ni familiares en relación con este hallazgo.

La determinación de GSH en este grupo de enfermos muestra valores por debajo de 40 mgr. por 100 en 3 casos, en 2 de los cuales se pudo efectuar simultáneamente actividad Gl-6-FDH y era normal. Reducción de la cifra de GSH tras el test de Beutler fue mayor del 40 por 100 en un solo caso, que por cierto tenía cifras basales de 108 mgr.

Creemos que este grupo de personas no aporta en su investigación más datos de interés, aparte lo indicado.

TABLA VI

GLUCOSA-6-FOSFATO-DEHIDROGENASA (TEST VISUAL), GLUTATION REDUCIDO Y TEST DE BEUTLER (TRAS INCUBACION EN ACETIL-FENIL-HIDRAZINA) EN PACIENTES CON DIABETES MELLIIUS Y OTRAS ENDOCRINOPATIAS

N.º	Nombre	S.	Edad	Gl-6-FDH (min.)	GSH (mgr. de hematies)	AFH (% c. c.)	Diagnóstico
1.	J. A. G.	V	76	12	71	52	Diabetes Mellitus compensada.
2.	F. B. M.	V	67		81	74	Diabetes Mellitus compensada.
3.	A. E. C.	H	67	21			Diabetes Mellitus compensada.
4.	C. G. F.	H	45	6	30	21	Diabetes Mellitus. Anemia.
5.	P. R. M.	H	70	20	50	45	Diabetes Mellitus. Anemia.
6.	F. R. M.	H	54	25			Diabetes Mellitus. Anemia.
7.	L. A. D.	H	68		52	52	Diabetes Mellitus. Anemia.
8.	A. I. B.	V	65	No dec.			Diabetes Mellitus. Embolia extremidad inferior.
9.	M. S. M.	H	64		59	47	Diabetes Mellitus descompensada.
10.	A. M. R.	H	72	23	48	46	Diabetes Mellitus descompensada.
11.	C. R. V.	H	69	10			Diabetes. Pielonefritis.
12.	R. M. M.	V	54		72	64	Diabetes Mellitus descompensada.
13.	E. R. F.	H	64	22	45	42	Diabetes Mellitus descompensada.
14.	A. J. M.	V	58	18			Diabetes Mellitus. Lues terciaria.
15.	E. E. G.	H	63		108	55	Diabetes Mellitus. Catarata diabética.
16.	V. N. B.	H	53	8			Diabetes Mellitus. Catarata diabética.
17.	R. G. C.	H	77	18	48	41	Diabetes Mellitus.
18.	G. F. Q.	H	61	7			Diabetes Mellitus.
19.	D. V. L.	H	41	22			Diabetes Mellitus.
20.	A. M. R.	H	72	30	45	43	Diabetes Mellitus.
21.	D. G. M.	H	73	19			Diabetes Mellitus.
22.	M. C. R.	H	63	27			Diabetes Mellitus.
23.	F. N. M.	H	57		46	44	Diabetes Mellitus.
24.	C. F. S.	V	59	24			Diabetes Mellitus. Forunculosis.
25.	B. R. H.	V	57	7	67	67	Diabetes Mellitus.
26.	S. A. R.	V	78	23	38	38	Diabetes Mellitus descompensada.
27.	A. A. A.	H	63		34	29	Diabetes Mellitus. Retinopatía diabética.

N.º	Nombre	S.	Edad	GI-6- FDH (min.)	GSH (mgr. de hematies)	AFH % c.c.	Diagnóstico
28.	M. E. A.	H	38	9	78	76	Acromegalia. Adenoma de hipófisis.
29.	C. P. R.	H	25	28			Hipertiroidismo simple.
30.	M. P. J.	H	59		65	58	Hipertiroidismo simple.
31.	J. A. C.	V	41	26	66	55	Hipertiroidismo simple.
32.	A. F. P.	H	44	19	55	48	Mixedema.
33.	F. R. G.	V	48	25	52	45	Mixedema.
34.	A. B. R.	H	50	30			Cretinismo.
35.	G. R. F.	H	62	14			Bocio normofuncional.
36.	M. M. T.	H	47	10			Bocio normofuncional.
37.	J. B. R.	H	33	17			Bocio normofuncional.
38.	M. J. S.	H	51	16			Bocio normofuncional.
39.	M. M. M.	H	34	14	52	43	Hiperparatiroidismo. Litiasis renal.
40.	A. B. O.	H	39	25			Hiperparatiroidismo.
41.	G. G. G.	H	22	12	84	70	Hiperparatiroidismo.
42.	A. M. S.	V	22	18	63	61	Hipoparatiroidismo.
43.	R. S. P.	H	58		62	57	Síndrome climatérico.
44.	M. M. M.	H	45	7	40	36	Síndrome climatérico.
45.	M. F. R.	H	36	8	67	61	Pseudohermafroditismo masculino.

IX

RESULTADOS EN PACIENTES CON AFECCIONES RENALES

Hemos estudiado en este nuevo capítulo a 36 personas (12 varones y 24 hembras), de edades comprendidas entre los 6 y los 68 años, portadoras de los siguientes procesos: glomerulonefritis aguda (3), glomerulonefritis de evolución crónica (3), insuficiencia renal crónica (8), nefritis crónica de evolución nefrótica (2), síndrome nefrótico puro (2), pielonefritis gravídica (1), pielonefritis crónica (10), hidronefrosis (1), riñón poliquístico (1), tuberculosis renal (2) y cuadros de hipertensión nefrótica por esclerosis renal (3).

Estudiamos la actividad Gl-6-FDH en 26 ocasiones y el GSH y test de Beutler en 24 (*véase tabla VII*).

El test visual dio valores dentro de lo considerado por nosotros como normal en la mayor parte de los casos. Menos de 8 minutos de decoloración se encontraron en 3 ocasiones (7 m. en una insuficiencia renal crónica y 6 m. en una nefrosis infantil y en una pielonefritis crónica). Con un tiempo de decoloración prolongado más allá de los 32 minutos también encontramos otras 3 personas que padecían respectivamente glomerulonefritis crónica (36 m.), insuficiencia renal crónica (35 m.) y un síndrome nefrótico (37 m.), los dos últimos del sexo femenino. Ninguno de estos casos tenía unas cifras de GSH ni test de Beutler patológicas, en los casos en que se hizo determinación simultánea de ambos datos.

En cuanto al GSH, se encontraron casos con menos de 40 miligramos por 100 c. c. de hematíes en 4 ocasiones, ninguno de los cuales tenía un test de Beutler patológico. Descenso por debajo del 40 por 100 respecto al valor basal se produjo en 2 ocasiones, casos que por cierto tenían valores basales altos (149 y 72 mgr. por 100).

TABLA VII

GLUCOSA-6-FOSFATO-DEHIDROGENASA (TEST VISUAL), GLUTATION REDUCIDO Y TEST DE BEUTLER (INACTIVACION TRAS ACETIL-FENIL-HIDRAZINA) EN PACIENTES CON DIVERSAS AFECCIONES RENALES

N.º	Nombre	S.	Edad	Gl-6-FDH (min.)	GSH (mgr. de hematies)	AFH % c. c.	Diagnóstico
1.	I. L. P.	H	27	15	39	37	Glomerulonefritis aguda.
2.	R. E. R.	H	26	18	38	34	Glomerulonefritis aguda.
3.	J. R. O.	V	11	20	64	59	Glomerulonefritis aguda.
4.	M. R. R.	V	36	20			Glomerulonefritis crónica.
5.	C. S. G.	H	32	10			Glomerulonefritis crónica.
6.	A. T. C.	V	42	36			Glomerulonefritis crónica.
7.	M. I. M.	H	62	30	36	36	Insuficiencia renal crónica.
8.	M. L. R.	V	31	8	72	53	Insuficiencia renal crónica.
9.	C. S. R.	H	60	7	149	74	Insuficiencia renal crónica.
10.	M. R. M.	V	68		73	27	Insuficiencia renal crónica.
11.	P. S. F.	H	16		49	38	Insuficiencia renal crónica.
12.	A. G. V.	V	50		22	19	Insuficiencia renal crónica.
13.	F. G. F.	V	38		41	37	Insuficiencia renal crónica.
14.	I. V. L.	H	38	35	88	59	Insuficiencia renal crónica.
15.	J. D. C.	V	17	25	78	78	Nefritis-Nefrosis.
16.	M. C. C.	V	48		90	77	Nefritis-Nefrosis.
17.	G. M. M.	H	19	37			Síndrome nefrótico.
18.	A. G. A.	V	6	6			Nefrosis infantil. Anemia.
19.	M. F. G.	H	22		44	40	Pielonefritis gravídica.
20.	C. R. V.	H	69	6	48	28	Pielonefritis crónica.
21.	F. F. R.	H	56	14	64	52	Pielonefritis crónica.
22.	M. S. B.	H	67	23	66	66	Pielonefritis crónica.
23.	C. R. P.	H	41		66	60	Pielonefritis crónica.
24.	C. P. G.	H	52	29			Pielonefritis crónica. Dolicocon.
25.	M. M. E.	H	45	23			Pielonefritis crónica.
26.	F. F. R.	H	56	14			Pielonefritis crónica.
27.	F. P. R.	H	54	22			Pielonefritis crónica.
28.	J. M. M.	H	30	9			Pielonefritis crónica.
29.	P. M. E.	H	65	10			Pielonefritis crónica.
30.	A. P. P.	H	13		66	64	Hidronefrosis.
31.	J. C. M.	V	45	30	59	53	Riñón poliquistico.
32.	M. G. R.	H	34	9	79	77	Tuberculosis renal.
33.	R. L. M.	H	55		66	46	Tuberculosis renal.
34.	P. R. M.	H	45		62	47	Hipertensión nefrógena.
35.	J. M. V.	V	67	25			Hipertensión nefrógena.
36.	C. M. G.	H	21	22			Hipertensión nefrógena.

X

RESULTADOS EN PACIENTES CON AFECCIONES PLEUROPULMONARES NO NEOPLASICAS

En este grupo se han incluido 44 pacientes con afecciones de vías respiratorias y parénquima pulmonar, así como otros con cor pulmonale crónico. Puesto que nuestra clasificación para el estudio actual pretende ser etiológica en la medida de lo posible, hemos creído que aquí debían ser incluidos estos pacientes secundariamente cardíacos; 27 personas eran varones y 17 hembras. Sus edades oscilan entre los 4 y 86 años.

Las afecciones que padecían estos enfermos eran: fibrosis pulmonar (4), asma bronquial (9), bronquitis aguda (1), bronquitis crónica (11), tuberculosis pulmonar (5), pleuresía tuberculosa (1), pleuritis metaneumónica (1) y cor pulmonale crónico (12) (ver *tabla VIII*).

La actividad Gl-6-FDH (test visual) se determinó en 26 ocasiones. Se puede decir que todos estos enfermos tenían valores prácticamente normales. Una actividad aumentada (menos de 8 minutos, tiempo de decoloración) no se encontró nunca. Más allá de los 32 minutos sólo se encontró 1 caso, que tenía un test visual de 33 minutos (hembra, bronquitis crónica).

La determinación de GSH arrojó resultados semejantes. Menos de 40 mgr. por 100 sólo se encontraron en 2 enfermos: 1, hembra, con test de Beutler normal y actividad Gl-6-FDH normal; 1, varón, cor pulmonale crónico, que tenía un Beutler patológico, mas desgraciadamente en este caso no fue posible la determinación simultánea del test visual.

TABLA VIII

GLUCOSA-6-FOSFATO-DEHIDROGENASA (TEST VISUAL), GLUTATION REDUCIDO Y TEST DE BEUTLER (INACTIVACION TRAS ACETIL-FENIL-HIDRAZINA) EN PACIENTES CON AFECCIONES PLEUROPULMONARES NO NEOPLASICAS

N.º	Nombre	S.	Edad	Gl-6- FDH (min.)	GSH (mgr. % de hematies)	AFH % c. c.	Diagnóstico
1.	T. M. O.	H	67	11	73	56	Fibrosis pulmonar.
2.	A. J. O.	H	50	15	69	65	Fibrosis pulmonar.
3.	J. C. A.	V	49		79	77	Fibrosis pulmonar.
4.	R. G. C.	V	59	20			Fibrosis pulmonar.
5.	M. M. G.	V	25	9	63	47	Asma bronquial.
6.	D. L. M.	H	50	8			Asma alérgico a polvo de casa.
7.	D. R. S.	H	38		79	66	Asma bronquial.
8.	J. V. P.	V	58		120	115	Asma bronquial.
9.	V. C. F.	H	61	14	61	60	Asma bronquial.
10.	C. M. M.	H	61	22			Asma bronquial.
11.	J. M. F.	H	86	25	35	31	Asma bronquial.
12.	P. R. M.	H	64	27			Asma bronquial.
13.	J. G. M.	V	18	9	77	66	Asma bronquial.
14.	C. G. B.	H	48	14	40	36	Bronquitis crónica.
15.	M. C. H.	H	62	33			Bronquitis crónica.
16.	J. M. R.	V	74		58	58	Bronquitis crónica.
17.	A. J. R.	V	68		44	35	Bronquitis crónica.
18.	C. G. M.	V	50	25			Bronquitis crónica.
19.	M. G. G.	V	73	24			Bronquitis crónica.
20.	A. L. B.	V	52	12			Bronquitis crónica.
21.	M. S. R.	V	49	9			Bronquitis crónica.
22.	F. R. A.	V	4	18			Bronquitis aguda.
23.	A. P. R.	V	67	25			Bronquitis crónica.
24.	J. M. G.	V	80	14			Bronquitis crónica.
25.	M. C. C.	V	73	22			Bronquitis crónica.
26.	J. M. R.	V	52		64	48	Tuberculosis pulmonar.
27.	F. N. C.	V	48		114	90	Tuberculosis pulmonar.
28.	A. C. G.	V	61	17			Tuberculosis pulmonar.
29.	J. H. R.	V	37	12			Tisis crónica del adulto.
30.	C. P. G.	H	28	18	61	50	Tuberculosis pulmonar.
31.	J. M. C.	H	47		88	78	Pleuresía tuberculosa.
32.	A. J. T.	H	32		73	64	Pleuritis metaneumónica.
33.	J. P. C.	V	50	25			Cor pulmonale crónico.
34.	M. H. H.	H	42	8			Cor pulmonale crónico.
35.	J. F. D.	V	62		84	60	Cor pulmonale crónico.
36.	R. S. H.	V	50		74	58	Cor pulmonale crónico.
37.	E. T. C.	V	68		74	52	Cor pulmonale crónico.

N.º	Nombre	S.	Edad	Gl-6-FDH (min.)	GSH (mgr. de hematies)	AFH (% c.c.)	Diagnóstico
38.	V. P. M.	V	71		68	56	Cor pulmonale crónico.
39.	J. S. L.	V	62		79	41	Cor pulmonale crónico.
40.	M. M. M.	H	64		47	29	Cor pulmonale crónico.
41.	A. N. M.	V	61		79	75	Cor pulmonale crónico.
42.	C. A. R.	H	69	11	51	47	Cor pulmonale crónico.
43.	D. R. N.	H	64		83	82	Cor pulmonale crónico.
44.	N. M. C.	V	58		36	9	Cor pulmonale crónico.

XI

RESULTADOS EN PACIENTES CON AFECCIONES DEL APARATO DIGESTIVO NO MALIGNAS (EXCEPTO HEPATOPATIAS)

Están incluidos en este capítulo 83 enfermos con diversas afecciones del tracto digestivo (a excepción de hepatopatías previamente estudiadas), de los cuales, 32 eran varones y 51, mujeres. Sus edades oscilan entre los 13 y los 80 años. Eran portadores de los siguientes cuadros patológicos: úlcus gastroduodenal (20), síndrome postgastrectomía (1), gastroduodenitis (1), estenosis pilórica (1), gastritis crónica (6), gastritis hipertrófica de Menetrier (1), pancreatitis crónica recurrente (2), tuberculosis intestinal (2), enteropatía crónica inespecífica (1), esteatorrea idiopática o esprue nostras (2), fístula gástrica (1), enterocolitis crónica (3), colitis crónica (5), colitis hemorrágica (1), tiflitis (1), colon irritable (1), colitis ulcerosa gravis (1), colitis segmentaria (1), dolícomegacolon (1), síndrome doloroso en F.I.D. (2), apendicitis aguda (4), apendicitis crónica (3), linfadenitis mesentérica (1), peritonitis tuberculosa (1), colecistitis aguda (6), colecistopatías calculosas (13) y síndrome postcolecistectomía (1) (véase *tabla IX*).

La actividad Gl-6-FDH (test visual) fue estudiada en 55 personas (aunque desgraciadamente sólo en 8 casos simultáneamente con las determinaciones de GSH). Tiempo de decoloración *menor de 8 minutos* se encontró aquí en 7 enfermos (7 m. en 5, 6 m. en 1 y 5 m. en otro), en todos los cuales existían datos clínicos o de laboratorio de anemias posthemorrágicas o, en relación con el cuadro digestivo, de evolución prolongada. Más de 32 minutos encontramos en 4 enfermos (2 varones con 33 m., es decir, prácticamente normal; y 2 hembras con 37 y 43 m.). No hay datos simultáneos de GSH en estos pacientes. En ningún caso encontramos tests visuales de más de 60 minutos.

La determinación de GSH se hizo en 35 personas. Valores

basales inferiores a 40 mgr. por 100 sólo se encontraron en 1 caso (varón, con ulcus duodenal, 29 mgr. por 100 y reducción de más del 40 por 100 tras el Beutler). GSH basal superior a los 100 mgr. se encontró en 2 personas, por lo demás sin respuesta anormal tras la incubación en AFH.

Por último, la respuesta al test de Beutler mostró una reducción respecto a las cifras basales superior al 40 por 100 de ellas en 2 pacientes (uno de ellos ya mencionado). No existían determinaciones simultáneas de la actividad Gl-6-FDH en estos dos casos.

TABLA IX

GLUCOSA-6-FOSFATO-DEHIDROGENASA (TEST VISUAL), GLUTATION REDUCIDO Y TEST DE BEUTLER (TRAS INCUBACION EN AFH) EN PACIENTES CON PROCESOS DIGESTIVOS DE INDOLE MALIGNA

N.º	Nombre	S.	Edad	Gl-6-FDH (min.)	GSH (mgr. de hematies)	AFH (% c. c.)	Diagnóstico
1.	A. R. P.	V	59	10	66	53	Úlcus gástrico.
2.	J. R. P.	V	75		69	55	Úlcus gástrico.
3.	A. L. B.	V	52		41	24	Úlcus gástrico.
4.	M. R. F.	V	33		68	58	Úlcus gástrico.
5.	A. R. G.	V	53	53			Úlcus gástrico. Estenosis pilórica.
6.	J. R. F.	H	64	17			Úlcus gastroduodenal.
7.	M. J. L.	V	49	27			Úlcus gastroduodenal.
8.	M. V. C.	V	55	21			Úlcus duodenal.
9.	M. R. J.	H	50	18			Úlcus duodenal.
10.	C. D. C.	H	66	7			Úlcus yuxtapiilórico. Melena.
11.	F. P. G.	V	71	12	82	75	Úlcus duodenal.
12.	A. P. R.	V	67		83	75	Úlcus duodenal.
13.	J. L. P.	V	56		85	77	Úlcus duodenal.
14.	M. C. R.	V	52		93	75	Úlcus duodenal.
15.	G. R. F.	V	38		69	60	Úlcus duodenal.
16.	M. J. L.	V	49	27	29	12	Úlcus duodenal. Hematemesis y melena.
17.	G. M. R.	V	30		39	37	Úlcus duodenal.
18.	A. F. M.	V	45		63	24	Úlcus duodenal.
19.	J. V. C.	V	44		40	36	Úlcus duodenal.
20.	J. M. A.	V	48		55	52	Úlcus duodenal.
21.	J. C. P.	V	38		79	47	Gastrectomizado.
22.	F. A. F.	V	47		67	69	Gastroduodenitis.
23.	F. P. G.	V	68	11	53	51	Estenosis pilórica.
24.	C. F. E.	H	33		58	47	Gastritis crónica.
25.	E. C. H.	H	53	10			Gastritis crónica.
26.	J. S. L.	V	59	9			Gastritis crónica.
27.	A. H. C.	H	37	37			Gastritis crónica.
28.	Z. L. C.	H	19	18			Gastritis crónica.
29.	L. C. A.	H	72	14			Gastritis crónica.
30.	L. F. G.	H	78	11			Gastritis hipertrófica de Menetrier.
31.	J. G. E.	V	41	8			Pancreatitis crónica recurrente.
32.	M. M. A.	H	64				Pancreatitis crónica recurrente.
33.	C. F. M.	H	29	30			Tuberculosis intestinal.

N.º	Nombre	S.	Edad	Gl-6-FDH (min.)	GSH (mgr. de hematies)	AFH (% c.c.)	Diagnóstico
34.	E. H. H.	H	32	14			Tuberculosis ileocecal. Poliposis rectal.
35.	R. S. M.	H	43		113	93	Enteropatía crónica.
36.	F. M. G.	V	38		66	58	Esprue nostras.
37.	M. D. P.	V	51	20			Síndrome de malabsorción intestinal.
38.	J. P. S.	V	34	7			Fístula gastrocólica. Anemia.
39.	I. L. L.	H	32		60	48	Enterocolitis crónica.
40.	A. T. R.	H	59		60	57	Enterocolitis crónica.
41.	E. B. V.	H	44	18			Enterocolitis crónica.
42.	M. I. S.	H	40	20			Colitis crónica.
43.	G. J. M.	H	35	25			Colitis crónica.
44.	F. T. P.	H	60	25			Colitis crónica.
45.	D. F. S.	H	62	22			Colitis crónica.
46.	I. R. V.	H	16	7			Colitis crónica.
47.	N. F. R.	H	80	23			Colitis hemorrágica.
48.	F. L. N.	H	68		45	40	Tiflitis.
49.	J. F. S.	V	43	33			Colon irritable.
50.	M. R. R.	H	88		84	76	Colitis ulcerosa.
51.	R. H. S.	H	24		65	55	Colitis segmentaria.
52.	A. G. L.	V	49		57	49	Dolicomegacolon.
53.	E. F. R.	H	29	7			Síndrome doloroso en F.I.D.
54.	M. F. R.	H	32	7			Síndrome doloroso en F.I.D.
55.	I. S. C.	H	20	13			Apendicitis aguda.
56.	E. M. M.	H	16	23			Apendicitis aguda.
57.	J. S. J.	V	31	25			Apendicitis aguda.
58.	T. H. R.	H	25	19			Apendicitis crónica.
59.	M. M. R.	V	25	17			Apendicitis aguda.
60.	E. J. F.	H	20	14			Apendicitis crónica.
61.	C. G. F.	H	28	11			Apendicitis crónica.
62.	P. S. A.	V	13	27			Probable linfadenitis mesentérica.
63.	C. S. G.	H	38	15			Peritonitis tuberculosa.
64.	C. S. M.	H	59	18	67	53	Colecistitis aguda.
65.	F. R. P.	H	54		82	76	Colecistitis aguda.
66.	M. N. A.	H	50		60	47	Colecistitis aguda.
67.	J. L. R.	H	48	10	112	112	Colecistitis aguda.
68.	P. G. C.	H	58	6	55	52	Colecistitis aguda.
69.	A. M. B.	H	60	43			Colecistitis aguda.
70.	A. G. D.	V	32	13			Colelitiasis.
71.	C. G. M.	H	34	21			Colecistopatía crónica.
72.	C. S. M.	H	59	16			Colelitiasis.
73.	C. R. H.	H	34	9			Colecistitis crónica.
74.	C. H. R.	H	31		41	33	Colecistopatía crónica calculosa.
75.	R. H. P.	H	32		85	77	Colecistopatía crónica calculosa.

N.º	Nombre	S.	Edad	Gl-6-FDH (min.)	GSH (mgr. de hematies)	AFH (% c.c.)	Diagnóstico
76.	A. C. P.	H	33	8			Colecistopatía crónica calculosa.
77.	E. A. M.	H	62	9			Colecistopatía crónica calculosa.
78.	S. J. D.	H	60	14			Colecistopatía crónica calculosa.
79.	E. C. L.	H	50	24			Colecistopatía crónica calculosa.
80.	A. M. P.	H	65	29			Colecistopatía crónica calculosa.
81.	A. P. S.	V	46		72	48	Colecistopatía crónica calculosa.
82.	A. P. B.	H	63	5			Colelitiasis. Hígado graso.
83.	H. H. C.	H	52	12	48	44	Síndrome postcolecistectomía.

XII

RESULTADOS EN PACIENTES CON PROCESOS INFECCIOSOS DIVERSOS (INCLUIDO REUMATISMO POLIARTICULADO)

Hemos estudiado en este grupo 42 personas de ambos sexos (13 varones y 29 hembras), de edad comprendida entre los 3 y los 64 años, portadores de infecciones varias, a saber: síndrome febril de etiología indeterminada (1), brucelosis (4), sífilis (3), meningitis tuberculosa (2), meningitis meningocócica (1), linfadenitis probablemente tuberculosa (1), linfadenitis con poliserositis (1), salmonelosis (2), artritis gonocócica (1), infecciones amigdalares (9), sinusitis (2), anexitis (6), quiste hidatídico de pulmón (1 caso) y reumatismo poliarticular agudo (8).

Determinación de Gl-6-FDH (test visual) se hizo en 34 personas. Entre ellas se encontró un tiempo de decoloración inferior a los 8 minutos en 7 pacientes (5 hembras con 7 m., 1 varón con 6 m. y una hembra con 6 m.). En uno de estos casos había constancia de existir un cuadro anémico moderado (núm. 17, amigdalitis).

Un tiempo de decoloración prolongada (más de 32 m.) sólo se encontró en un paciente, hembra (anexitis) que presentaba un test visual con 36 minutos. Véanse más detalles en la correspondiente *tabla X*.

Se efectuó *determinación de GSH* en 16 ocasiones. En ningún caso encontramos aquí valores de GSH basal inferiores a los 40 mgr. por 100 ni superiores a 100, es decir, fuera de lo considerado normal por nosotros.

En cambio, en dos casos sí existía una reducción de los valores de GSH por arriba del 40 por 100 tras el test de Beutler.

TABLA X

GLUCOSA-6-FOSFATO-DEHIDROGENASA (TEST VISUAL), GLUTATION REDUCIDO Y TEST DE BEUTLER (TRAS INCUBACION EN ACETIL-FENIL-HIDRAZINA) EN PACIENTES CON PROCESOS INFECCIOSOS Y REUMATISMO POLIARTICULAR AGUDO

N.º	Nombre	S.	Edad	Gl-6-FDH (min.)	GSH (mgr. de hematíes)	AFH (% c. c.)	Diagnóstico
1.	M. M. M.	H	8	6			Síndrome febril.
2.	L. L. C.	V	52		64	22	Brucelosis.
3.	M. L. R.	V	48	16			Brucelosis.
4.	A. L. R.	V	21	30			Brucelosis.
5.	J. L. P.	H	30	12			Brucelosis.
6.	E. F. C.	H	60		58	58	Sífilis antigua.
7.	G. A. P.	H	64	12			Sífilis terciaria.
8.	T. F. C.	H	52	9			Sífilis terciaria.
9.	E. S. C.	H	21	7	44	43	Meningitis tuberculosa.
10.	J. F. F.	H	27	31			Meningitis tuberculosa.
11.	F. C. R.	H	14	7	76	35	Meningitis meningocócica.
12.	M. L. M.	H	8	14			Linfadenitis tuberculosa.
13.	J. L. S.	V	16	24			Poliserositis.
14.	M. M. M.	V	31		68	63	Salmonelosis.
15.	F. A. S.	H	31	25	40	60	Salmonelosis.
16.	M. F. Q.	H	45		67	60	Artritis gonocócica.
17.	M. G. N.	H	30	7	50	37	Amigdalitis. Anemia (3,6 m.).
18.	J. H. C.	V	7	19			Amigdalitis.
19.	M. G. G.	V	11	14			Amigdalitis.
20.	M. L. M.	H	13	17			Amigdalitis.
21.	M. F. A.	V	3	6			Amigdalitis.
22.	A. J. V.	V	4	10			Amigdalitis.
23.	T. R. O.	H	8	9			Amigdalitis.
24.	A. M. J.	H	40	19			Amigdalitis.
25.	M. L. V.	V	29	21			Amigdalitis.
26.	J. F. A.	V	24	20	71	49	Sinusitis.
27.	T. F. C.	H	26	7	65	53	Sinusitis.
28.	I. S. C.	H	20	14	49	38	Anexitis.
29.	F. M. A.	H	33		61	44	Anexitis.
30.	M. G. S.	H	45		51	46	Anexitis.
31.	C. M. A.	H	26	20	81	71	Anexitis.
32.	M. V. V.	H	37	25			Anexitis.
33.	T. V. M.	H	47	36			Anexitis.
34.	T. F. F.	H	34	7			Quiste hidatídico de pulmón.
35.	J. B. G.	V	12	20			Reumatismo poliarticular agudo.
36.	M. D. M.	H	36	30			Reumatismo poliarticular agudo.

N.º	Nombre	S.	Edad	Gl-6-FDH (min.)	GSH (mgr. de hematies)	AFH (% c.c.)	Diagnóstico
37.	E. T. P.	H	54	22			Reumatismo poliarticular agudo.
38.	A. G. F.	H	22	21			Reumatismo poliarticular agudo.
39.	M. R. O.	V	11	12			Reumatismo poliarticular agudo.
40.	I. O. R.	H	24	12			Reumatismo poliarticular agudo.
41.	A. J. S.	H	40		43	29	Reumatismo poliarticular agudo.
42.	R. T. C.	H	18		49	46	Reumatismo poliarticular agudo.

XIII

RESULTADOS EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y LUPUS ERITEMATOSO DISEMINADO

Figura aquí un grupo reducido de enfermos, 31 en total, también de ambos sexos (5 varones y 27 hembras), de edades comprendidas entre los 17 y 70 años, reunidos en este capítulo por esta hipotética conexión entre ambas entidades morbosas; 26 casos corresponden a artritis reumatoide en diversos estadios evolutivos; 6 casos exactamente corresponden a enfermos con lupus eritematoso diseminado. Véanse resultados conjuntos en la *tabla XI*.

Actividad Gl-6-FDH (test visual) fue determinada en 24 ocasiones. En el subgrupo de pacientes con A.R. hemos encontrado 1 caso con tiempo de decoloración de 7 minutos. Otro caso con tiempo de decoloración de 37 minutos: se trataba de una hembra de 48 años, que, por lo demás, no presenta otros antecedentes patológicos aparte de los indicados. No se hizo determinación simultánea de GSH.

Entre los pacientes con L.E.D. destaca el caso número 32, con tiempo de decoloración de 3 minutos, es decir, una actividad extraordinariamente aumentada. Esta paciente presentaba una anemia marcada, hipercrómica; y por otra parte había un afectación renal intensa que hacía su cuadro de mal pronóstico a corto plazo. Llama la atención poderosamente el hecho de su sexo cromosómico masculino.

Los valores de GSH se determinaron en 19 ocasiones. No aportaron datos de interés en ninguno de los pacientes con A.R. en los que tanto la cifra de GSH como tras el test de Beutler estaban prácticamente dentro de la norma. En un solo caso la reducción era exactamente del 40 por 100. Era una paciente con actividad Gl-6-FDH normal por test visual. En el subgrupo de enfermos de L.E.D. se hicieron 5 determinaciones (ver gráfica

correspondiente en el capítulo de hemopatías). Destaca un caso (núm. 28) con GSH basal de 152 mgr. por 100, varón. Y otro (núm. 31) con una cifra basal de 44 mgr. que tras el test de Beutler hace más del 80 por 100 de reducción. Su actividad Gl-6-FDH dio un test visual de 9 minutos, es decir, dentro de lo considerado como normal. Creemos de valor esta observación, que, junto con otras, nos hablará del verdadero valor de las determinaciones de GSH en el diagnóstico de la enzimopatía por Gl-6-FDH.

TABLA XI

GLUCOSA-6-FOSFATO-DEHIDROGENASA (TEST VISUAL), GLUTATION REDUCIDO Y TEST DE BEUTLER (TRAS INCUBACION EN ACETIL-FENIL-HIDRAZINA) EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y LUPUS ERITEMATOSO DISEMINADO

N.º	Nombre	S.	Edad	Gl-6-FDH (min.)	GSH (mgr. de hematies)	AFH (% c. c.)	Diagnóstico
1.	R. A. R.	H	49		74	61	Artritis reumatoide.
2.	A. C. R.	V	60		65	54	Artritis reumatoide.
3.	S. C. F.	H	25	25			Artritis reumatoide.
4.	J. G. H.	H	27	26			Artritis reumatoide.
5.	E. Z. C.	H	48	37			Artritis reumatoide.
6.	F. P. B.	V	42	26			Artritis reumatoide.
7.	M. B. R.	H	80		64	58	Artritis reumatoide.
8.	J. J. C.	H	46		55	50	Artritis reumatoide.
9.	A. O. A.	H	48	10	103	87	Artritis reumatoide.
10.	M. G. M.	V	69	28			Artritis reumatoide.
11.	C. R. F.	H	65	7			Artritis reumatoide.
12.	M. M. C.	H	66	10			Artritis reumatoide.
13.	P. V. J.	H	56		69	42	Artritis reumatoide.
14.	A. R. H.	H	51		59	48	Artritis reumatoide.
15.	B. S. L.	H	32	11	96	58	Artritis reumatoide.
16.	S. C. F.	H	41	30	76	72	Artritis reumatoide.
17.	M. B. R.	V	53		69	62	Artritis reumatoide.
18.	P. T. C.	H	70	11			Artritis reumatoide.
19.	A. M. M.	H	63	21			Artritis reumatoide.
20.	J. J. C.	H	51	24			Artritis reumatoide.
21.	D. R. G.	H	65	17			Artritis reumatoide.
22.	C. G. R.	H	42	13			Artritis reumatoide.
23.	E. T. P.	H	67		85	69	Artritis reumatoide.
24.	A. G. F.	H	22	20	60	55	Artritis reumatoide.
25.	B. N. M.	H	46	24	59	56	Artritis reumatoide.
26.	N. R. R.	H	75	11	65	58	Artritis reumatoide.
27.	R. A. V.	H	22	10	93	78	Lupus eritematoso diseminado.
28.	M. O. G.	V	17	9	152	115	Lupus eritematoso diseminado.
29.	C. G. P.	H	20	21	52	49	Lupus eritematoso diseminado.
30.	D. C.	H	30	11	69	66	Lupus eritematoso diseminado.
31.	E. S. Ll.	H	38	9	44	8	Lupus eritematoso diseminado.
32.	J. P. S.	H	24	3			Lupus eritematoso diseminado. (nefritis lúpica [urea 0,80]). (anemia: 2,5 m. Amenorrea primaria. Sexo cromosómico masculino).

XIV

RESULTADOS EN PACIENTES CON DIVERSAS AFECCIONES Y PROCESOS

El capítulo presente reúne todos aquellos pacientes que no han sido estudiados antes y que a su vez no corresponden con los afectos de cuadros hematológicos y especialmente con los que expresan clínicamente el déficit de Gl-6-FDH, a los cuales concedemos un interés principal. Se incluyen aquí 137 enfermos de ambos sexos (49 varones y 88 hembras) con edades que oscilan entre los 7 y los 100 (1 varón con arteriopatía obstructiva de miembros inferiores), que padecían los más diversos cuadros. Renunciamos a la enumeración de los mismos, puesto que no existe un nexo etiológico y remitimos a la *tabla XII*, donde están expuestos los resultados de esta investigación.

La *actividad Gl-6-FDH (test visual)* se investigó en 111 pacientes, de los cuales, 4 tenían un aumento de la misma (tiempo de decoloración inferior a los 8 minutos). Por el contrario, existía un tiempo de decoloración superior a los 32 minutos en 7 ocasiones: 34 m. en una mujer embarazada, con un GSH de 34 mgr. por 100 y test de Beutler normal. También en otra mujer con un síndrome vulvar (no había GSH en este caso); 35 m. se encontró en un varón operado de hernia inguinal; y en otro con cefalalgia (en ninguno de ellos había GSH simultáneamente determinado); 40 m. encontramos en 2 hembras, de las que una tenía un GSH dentro de la norma (no se determinó en la otra); 45 m. encontramos en 2 casos más: 1 varón y 1 hembra, en ninguno de los cuales había GSH simultáneo.

Se encontró una *actividad Gl-6-FDH prácticamente ausente* (tiempo de decoloración superior a 60 minutos) en 2 casos: 2 varones, portadores de una fractura de extremidad inferior y una aortitis luética respectivamente.

Los valores de GSH en estos pacientes se determinaron en 52 personas. Encontramos cifras de GSH basal inferiores a los

40 mgr. por 100 en 6 ocasiones: 1 mujer embarazada, 2 varones con arterioesclerosis, 2 niñas de 11 y 16 años con una heredoataxia cerebelosa de Friedrich y en otra mujer con una epilepsia temporal. La actividad Gl-6-FDH era normal en 3 de estas 6 personas, en las que se hizo determinación simultánea.

Reducción superior al 40 por 100 respecto a la cifra basal encontramos en 2 ocasiones: una (caso núm. 40) con casi el 70 por 100 de reducción; otra (caso núm. 60) con un 45 por 100 de reducción. En ninguno de los dos casos había determinación sistemática de actividad Gl-6-FDH.

TABLA XII

GLUCOSA-6-FOSFATO-DEHIDROGENASA (TEST VISUAL), GLUTATION REDUCIDO Y TEST DE BEUTLER (TRAS INCUBACION EN ACETIL-FENIL-HIDRAZINA) EN PACIENTES CON AFECCIONES VARIAS

N.º	Nombre	S.	Edad	Gl-6-FDH (min.)	GSH (mgr. de hematies)	AFH (% c. c.)	Diagnóstico
1.	E. D. R.	H	24	11	63	50	Embarazo en 9.º mes.
2.	A. M. L.	H	28	34	34	32	Embarazo en 9.º mes.
3.	A. M. M.	H	24	9			Embarazo en 5.º mes.
4.	D. A. L.	H	38	21			Embarazo en 9.º mes.
5.	T. M. S.	H	34	13			Embarazo en 4.º mes. Feocromocitoma.
6.	E. R. S.	H	29		49	49	Puerperio.
7.	J. H. H.	H	25		56	50	Puerperio.
8.	E. R. V.	H	32		76	62	Puerperio.
9.	E. H. H.	H	37		66	56	Aborto diferido.
10.	M. M. A.	H	26	15			Cistitis.
11.	A. G.	H	49	19			Vaginitis.
12.	J. R. G.	H	52	19			Prolapso uterino.
13.	P. C. F.	H	53	16			Cervicitis.
14.	M. M. A.	H	18	11			Metrorragias.
15.	M. R. M.	H	48	10			Menopausia.
16.	N. B. M.	H	52	12	70	66	Lumbartrosis.
17.	G. J. M.	H	65	23	97	85	Lumbartrosis.
18.	C. R. V.	H	57	24	84	77	Lumbartrosis.
19.	G. J. M.	V	20	11	67	45	Hernia discal.
20.	M. A. T.	H	77	30	64	52	Gonartrosis.
21.	T. L. L.	H	65		88	66	Periartritis escapulo-humeral.
22.	A. R. G.	H	32		85	75	Coxartrosis.
23.	B. I. M.	V	19	21			Sacroileítis bilateral.
24.	C. C. F.	V	44	25			Osteoporosis.
25.	C. L. A.	H	37	21			Dorsalgia.
26.	M. M. R.	H	53	23			Síndrome de insuficiencia vertebral.
27.	J. M. C.	V	67	22			Artritis de cadera.
28.	F. C. P.	V	24	32			Hernia discal.
29.	A. G. A.	V	63	24			Artrosis de rodilla.
30.	J. C. C.	V	45	21			Discartrosis.
31.	J. F. C.	V	61	No decol.			Fractura de extremidad inferior izquierda.
32.	E. G. G.	H	52		65	52	Pólipo cervical benigno.
33.	M. L. M.	H	40		59	47	Pólipo cervical benigno.

N.º	Nombre	S.	Edad	Gl-6- FDH (min.)	GSH (mgr. de hematies)	AFH (% c. c.)	Diagnóstico
34.	M. V. V.	H	25		63	53	Fibroma de mama.
35.	D. D. R.	H	33		70	53	Pólipo vesical.
36.	J. G. M.	V	78	22	82	74	Papiloma vesical.
37.	J. M. F.	V	74	25			Adenoma de próstata.
38.	J. G. R.	V	60	16			Prostatismo.
39.	A. C. F.	V	53	17	46	45	Abuso de fenacetina.
40.	R. M. M.	V	13		51	16	Intoxicación barbitúrica.
41.	J. E. M.	V	43	13			Uretritis.
42.	A. C. M.	V	32	17			Litiasis de vejiga.
43.	M. L. R.	V	62	15			Litiasis de vejiga.
44.	F. B. L.	H	72	21			Catarata senil.
45.	D. M. P.	H	47	9			Catarata zonular bilateral.
46.	R. G. H.	H	70	11			Cataratas.
47.	J. T. R.	V	73	13			Catarata senil.
48.	M. P. M.	H	75	25			Catarata senil.
49.	M. C. G.	V	68	10			Catarata bilateral.
50.	A. B. P.	H	66	8			Catarata senil.
51.	M. R. A.	H	11	9			Anorexia psicógena.
52.	P. Z. M.	V	66	23			Porfiria cutánea.
53.	J. F. L.	V	48	8			Hernia epigástrica.
54.	R. C. M.	V	54	35			Posoperatorio de hernia inguinal.
55.	A. F. H.	V	11	15			Distrofia muscular progresiva.
56.	E. V. R.	V	75		41	41	Arterioesclerosis generalizada.
57.	E. T. I.	H	68	9	78	78	Arterioesclerosis generalizada.
58.	F. R. M.	V	57		35	33	Arterioesclerosis generalizada.
59.	F. B. L.	H	71	25	52	52	Arterioesclerosis generalizada.
60.	D. N. G.	V	60		38	21	Arterioesclerosis generalizada.
61.	A. I. B.	V	65	11			Arterioesclerosis generalizada.
62.	J. M. M.	V	100	10			Arteriopatía obstructiva de miembro inferior.
63.	E. M. M.	H	62	17			Trombosis de arteria central de retina.
64.	L. M. H.	V	48	7			Varices.
65.	J. F. M.	V	38	22			Enfermedad de Buerger. Hemiplejía.
66.	C. M. L.	H	20	25	64	64	Síndrome postcomisurotomía.
67.	C. C. G.	H	21	14			Carditis reumática.
68.	M. F. R.	H	12	24			Carditis reumática.
69.	E. P. S.	H	14	11			Carditis reumática.
70.	A. M. P.	H	31	12			Valvulopatía mitral. Embolias de repetición.
71.	C. R. M.	H	7		75	47	Carditis reumática.
72.	P. C. M.	V	12		49	42	Carditis reumática.
73.	E. F. H.	H	26		49	49	Valvulopatía mitral.
74.	M. P. M.	H	51		63	43	Valvulopatía mitral.

N.º	Nombre	S.	Edad	Gl-6-FDH (min.)	GSH (mgr. de hematies)	AFH (% c. c.)	Diagnóstico
75.	M. M. V.	H	38	10			Valvulopatía mitral. Insuficiencia cardíaca.
76.	J. T. S.	H	44	11	53	41	Valvulopatía mitral.
77.	V. M. V.	H	50		61	58	Valvulopatía mitral.
78.	A. A. L.	H	20	12	56	51	Valvulopatía mitral.
79.	P. D. V.	H	31	11			Valvulopatía mitral.
80.	A. J. G.	H	39	14			Valvulopatía mitral.
81.	J. V. L.	H	30	18			Valvulopatía mitral.
82.	C. M. L.	H	18	24			Valvulotomía tras valvulopatía mitral.
83.	E. M. L.	H	26		62	54	Lesión mitroaórtica.
84.	F. C. F.	V	54	8	81	75	Lesión mitroaórtica.
85.	C. F. M.	H	64	20			Insuficiencia cardíaca congestiva.
86.	P. V. V.	H	32	25			Insuficiencia cardíaca congestiva.
87.	L. T. M.	H	40	11			Insuficiencia cardíaca congestiva.
88.	E. T. I.	H	68	8			Insuficiencia cardíaca congestiva.
89.	M. R. O.	H	45	7	43	41	Insuficiencia cardíaca congestiva.
90.	R. S. A.	H	83	7	56	46	Insuficiencia cardíaca congestiva.
91.	M. M. C.	V	52		50	37	Insuficiencia cardíaca congestiva.
92.	E. O. V.	H	44	14			Cardiopatía hipertensiva.
93.	J. C. S.	V	82	23			Fibrilación auricular. Parkinson.
94.	C. R. M.	V	57		67	61	Cardioesclerosis.
95.	M. V. S.	V	67		46	39	Cardioesclerosis.
96.	C. C. C.	H	55	40	64	59	Cardioesclerosis.
97.	A. B. S.	H	80	23	47	38	Cardioesclerosis.
98.	F. V. R.	V	72	17			Cardioesclerosis.
99.	D. M. S.	H	63	16			Cardioesclerosis.
100.	F. M. R.	V	69	10			Cardioesclerosis.
101.	S. A. G.	H	61	12			Cardioesclerosis.
102.	F. R. M.	V	57	6			Cardioesclerosis.
103.	J. P. P.	H	63	40			Cardioesclerosis.
104.	C. C. C.	H	74	28			Cardioesclerosis.
105.	G. J. V.	H	76	23			Cardioesclerosis.
106.	F. B. M.	V	61	12			Bloqueo de rama izquierda.
107.	R. M. M.	V	52		71	67	Infarto de miocardio.
108.	F. M. E.	V	67	No dec.			Aortitis luética.
109.	A. R. C.	H	69	22			Neuralgia de trigémino.
110.	J. R. C.	V	40	10			Neuralgia de trigémino.
111.	M. R. C.	H	42	22			Neuralgia de trigémino.
112.	A. S. P.	V	23	10			Polineuritis carencial.
113.	A. R. V.	H	65	20	55	45	Esclerosis en placas.
114.	E. S. N.	V	54	22	57	47	Parálisis bulbar crónica.
115.	R. D. G.	H	54	34			Síndrome bulbar.
116.	F. C. C.	V	36	7			Síndrome de compresión medular.

N.º	Nombre	S.	Edad	Gl-6- FDH (min.)	GSH (mgr. % c. c. de hematies)	AFH	Diagnóstico
117.	M. G. G.	H	11		39	36	Heredoataxia de Friedrich.
118.	M. A. G.	H	16	12	28	24	Heredoataxia de Friedrich.
119.	D. H. M.	H	68	45			Hemorragia subdural.
120.	C. C. C.	H	55	23			Embolia cerebral.
121.	M. T. M.	H	65	28			Hemiplejía. Trombosis cerebral.
122.	F. G. M.	V	66	10			Hemiplejía. Accidente vascular cerebral.
123.	I. G. P.	H	40	23	31	28	Epilepsia temporal.
124.	F. T. J.	H	20	19	55	44	Epilepsia temporal.
125.	J. R. R.	V	7	12			Epilepsia.
126.	M. R. M.	V	24		74	61	Distonía neurovegetativa.
127.	D. L. M.	H	60	9	75	62	Parkinson.
128.	R. R. M.	H	65	9	47	41	Parkinson.
129.	A. B. B.	V	30	35			Cefalalgia.
130.	A. R. M.	H	44	11			Cefaleas.
131.	T. J. A.	H	32	16			Cefaleas.
132.	E. G. M.	H	30	30			Síndrome de Barré-Lieu.
133.	M. T. M.	H	19	25			Jaqueca.
134.	M. G. R.	H	28	18			Jaqueca.
135.	C. C. M.	H	44	21			Neurosis de angustia.
136.	F. R. D.	V	27	20			Psiconeurosis.
137.	A. F. M.	H	47	10			Histeria.

RESULTADOS EN PACIENTES CON AFECCIONES HEMATOLOGICAS Y RETICULOSIS MALIGNAS

Hemos incluido en este capítulo a un grupo de 37 personas afectas de cuadros hematológicos que ocupaban el primer plano de la enfermedad, así como sujetos con una reticulosis de índole maligna; 12 eran varones y 25 mujeres. La edad oscila entre los catorce y 78 años.

Los cuadros clínicos que portaban estos enfermos eran: anemia hipocroma (la mayor parte de las veces posthemorrágica) (7), anemia hipocroma en el marco de una macroglobulinemia (1), anemia perniciosa (3), anemia hipercroma-megaloblástica (en un caso asociada a pelagra) (3), anemia megaloblástica en una cirrosis hepática (1), anemia hemolítica de índole poco clara (4), talassemia minor (1), anemia por exposición a rayos X (1), anemia aplástica, probable fase aleucémica de una leucosis (1), leucemia mieloide crónica (2), leucemia linfoide crónica (1), trombopenia (1), parahemofilia (1), enfermedad de Hodgkin (7), reticulosis maligna no bien filiada (1), plasmocitoma beta (1) y cloroma (1) (véase *tabla XIII*).

La actividad Gl-6-FDH se determinó en 35 de estos enfermos. Llama poderosamente la atención el tiempo de decoloración tan reducido (es decir, la alta actividad Gl-6-FDH) en la mayor parte de los sujetos con un cuadro anémico, aquí recogidos, así como en el número 25, con una leucosis linfoide crónica. En 9 personas el tiempo de decoloración era inferior a 8 minutos; pero obsérvese que en casi todos los demás casos de este capítulo (con las excepciones que ahora indicaremos) se aproxima a este margen inferior en cuanto a tiempo.

En 2 casos (anemia megaloblástica con cirrosis hepática y anemia aplástica) no hubo decoloración pasados 60 minutos, es decir, se reveló un déficit completo de actividad Gl-6-FDH. Es-

tos casos (núms. 15 y 22, junto con el núm. 20) serán referidos con extensión en el siguiente capítulo.

El GSH se determinó en 16 casos. En las hemopatías no reveló ningún comportamiento de particular, tanto en sus cifras basales como tras el test de Beutler (ver *gráficas 4, A y 4, B*). En cambio, en un paciente con plasmocitoma y en otro con un cloroma la cifra basal estaba ligeramente por debajo de los 40 mgr. por 100. En este último (núm. 37) y en otro paciente con Hodgkin la reducción tras test de Beutler era superior al 40 por 100 respecto al valor basal (véase *gráfica 3, B*, pág. 53).

TABLA XIII

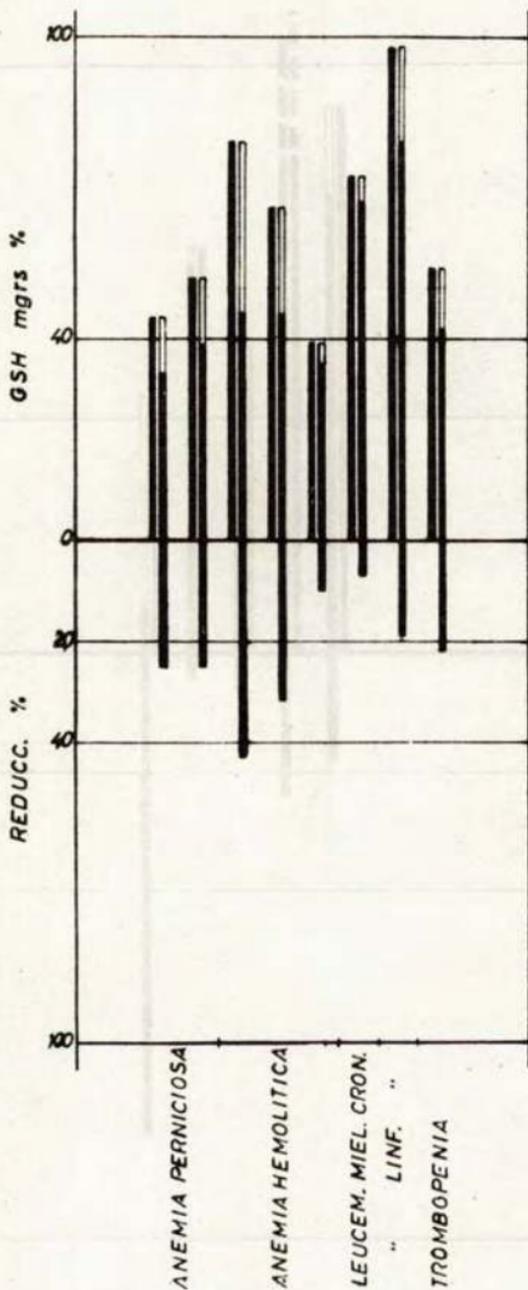
GLUCOSA-6-FOSFATO-DEHIDROGENASA (TEST VISUAL), GLUTATION REDUCIDO Y TEST DE BEUTLER (TRAS INCUBACION EN ACETIL-FENIL-HIDRAZINA) EN PACIENTES CON AFECCIONES HEMATOLOGICAS Y RETICULOSIS

N.º	Nombre	S.	Edad	GI-6-FDH (min.)	GSH (mgr. de hematies)	AFH (% c. c.)	Diagnóstico
1.	E. T. A.	H	54	7			Anemia poshemorrágica (2,5 m.).
2.	E. R. R.	H	68	8			Anemia hipocroma. Cataratas.
3.	A. R. C.	V	63	10			Anemia poshemorrágica.
4.	M. L. H.	H	62	10			Anemia normocroma.
5.	N. S. L.	H	51	6			Anemia de índole indeterminada.
6.	T. M. O.	H	30	10			Anemia hipocroma. Aquilia.
7.	C. G. F.	H	50	8			Anemia poshemorrágica.
8.	M. C. C.	H	78	8			Anemia hipocroma. <i>Macroglobulinemia</i> .
9.	C. M. M.	H	62	5	44	33	Anemia perniciosa de Biermer.
10.	M. H. H.	H	75	7	52	39	Anemia perniciosa.
11.	A. P. F.	H	54	7			Anemia perniciosa.
12.	J. R. L.	H	22	7			Anemia hipercroma indeterminada.
13.	M. N. H.	H	70	25			Anemia megaloblástica.
14.	E. F. S.	H	68	8			Anemia megaloblástica. Pelagra.
15.	A. R. S.	H	42	No dec.			(1) Anemia megaloblástica. <i>Cirrosis hepática</i> .
16.	A. C. H.	H	32	9	79	45	Anemia hemolítica.
17.	F. A. M.	V	20	30	66	45	Anemia hemolítica.
18.	J. R. M.	H	58	7	39	35	Anemia hemolítica.
19.	E. C. F.	V	54	10			Anemia hemolítica.
20.	C. P. G.	H	33	7	66	60	(1) Talasemia minor-mínima.
21.	S. R. R.	H	42	10			Anemia por exposición a R. X.
22.	J. R. P.	V	31	No dec.			(1) Anemia aplástica. Probable leucosis en fase aleucémica.
23.	L. L. R.	H	36	9	72	67	Leucemia mieloide crónica.
24.	I. L. C.	V	64	8			Leucemia mieloide crónica.
25.	I. G. F.	V	60	7	98	97	Leucemia linfoide crónica.
26.	S. A.	H	28	22	54	42	Trombopenia.
27.	J. M. M.	V	25	30			Parahemofilia. Hermartrosis derecha (No antecedente familiar).
28.	J. G. L.	V	36	25	45	34	Enfermedad de Hodgkin.
29.	A. G. R.	V	48	25	80	71	Enfermedad de Hodgkin.
30.	D. B. G.	H	29	8	67	52	Enfermedad de Hodgkin.

N.º	Nombre	S.	Edad	Gl-6-FDH (min.)	GSH (mgr. % c. c. de hematies)	AFH	Diagnóstico
31.	A. A. M.	V	23	8	84	48	Enfermedad de Hodgkin. Com-
32.	C. P. B.	H	18	20			ponente hemolítico. Enfermedad de Hodgkin.
33.	S. C. A.	H	10	10			Enfermedad de Hodgkin.
34.	G. R. M.	H	27		77	69	Enfermedad de Hodgkin.
35.	J. G. G.	V	28	30			Reticulosis maligna.
36.	A. C. A.	H	68	30	37	37	Plasmocitoma beta.
37.	J. S. F.	V	14		30	10	Cloroma.

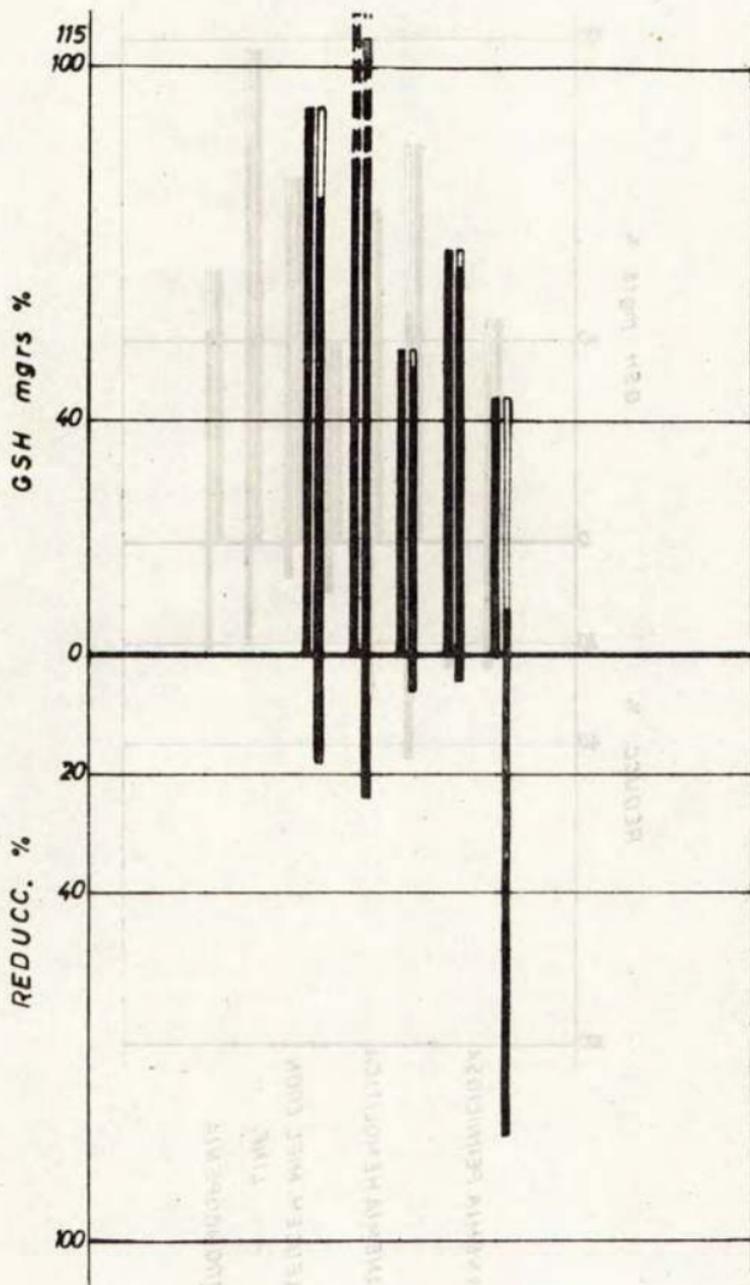
GRAFICA 4, A

REPRESENTACION DE VALORES DE GSH BASAL Y TRAS TEST DE BEUTLER EN 8 PACIENTES CON HEMOPATIAS DIVERSAS



GRAFICA 4, B

REPRESENTACION DE VALORES DE GSH BASAL Y TRAS TEST DE BEUTLER EN 5 ENFERMOS CON LUPUS ERITEMATOSO DISEMINADO



XVI

ESTUDIOS ENZIMATICOS EN GRUPOS DE FAMILIAS Y CASOS AISLADOS

Estudiamos aquí a 28 personas que, excepto en un caso concreto, forman parte de una familia, siendo 5 en total las familias que han sido en parte o en todo estudiadas desde el punto de vista clínico y hematológico.

En este capítulo el motivo de la investigación surgió de algún paciente que súbitamente sufrió un fenómeno hemolítico agudo y con la mayor rapidez fue internado en un centro hospitalario. Al reconocer en él el trastorno que nosotros andamos investigando, se hizo una investigación lo más meticulosa posible en los demás miembros de su familia. Tal ha sido la situación en las 3 primeras familias que a continuación presentaremos. Todas ellas tenían uno o más miembros con historia reciente o lejana de *favismo*.

En otra ocasión (4.^a familia a estudiar), en el transcurso de la investigación sistemática que efectuamos en pacientes del Hospital Clínico, encontramos una enferma con cirrosis hepática de claro origen alcohólico y una anemia intensa concomitante de índole poco clara: en ella el test visual para la Gl-6-FDH mostró una ausencia casi completa de actividad. La exploración espectrofotométrica en ella y sus 3 hijos corroboró* el defecto, si bien en este caso se trata de una *forma crónica*, mucho menos habitual que las manifestaciones agudas.

Hemos incluido en esta relación a otra familia, cuya madre vino a la consulta privada nuestra porque de siempre venía con un tinte subictérico que ocasionalmente se hacía más intenso. La exploración morfológica en sus hematíes demostró la existencia de una talasemia minor transmitida a uno de sus hijos. Dadas las frecuentes relaciones entre esta tara hematológica (también mediterránea) con el déficit por Gl-6-FDH, șometimos a

la familia a un estudio enzimático. También se exponen sus resultados.

Por último, un estudiante de Medicina natural de Amman (Jordania) experimentó una aguda crisis hemolítica que fue reconocida inmediatamente como un caso de *favismo*. Se ha incorporado también al estudio de estos casos particulares.

ESTUDIOS ENZIMÁTICOS EN CASOS DE FAVISMO

Estudiamos a 28 personas que sufrieron en un caso concreto (caso 1) de una familia donde 2 en total se afectaron que han sido en parte o en total estudiadas desde el punto de vista clínico y biológico.

En este capítulo el motivo de la investigación surgió de algún paciente que aparentemente sufrió un síndrome hemolítico agudo y con la misma etiología fue tratado en un centro hospitalario. Al respecto en el momento que se nos informaron de este caso se hizo una investigación lo más exhaustiva posible en los países miembros de la familia. Tal ha sido la situación en las 7 primeras familias que a continuación presentamos. Todas ellas son de origen árabe con historias recientes o lejanas de favismo.

En una ocasión (1ª familia o estudio) en el momento de la investigación clínica que efectuamos en pacientes de las 7 familias, encontramos una relación con ciertos síntomas de tipo febril, ictericia y una anemia intensa acompañada de una hematuria que en ella se resolvió por el G6PDH defectuoso. La exploración específica de nuestra casa completa de la familia. La exploración específica se hizo en ella a raíz de la historia de defecto de G6PDH en esta casa se hizo de una manera más exhaustiva para así poder que las familias afectadas.

Hay que incluir en esta relación a una familia que pertenecía a la familia (segunda familia) porque de siempre vivía con un tipo de defecto que ocasionadamente se hacía más intenso. La exploración clínica en sus miembros afectadas y en sus hijos nos dio una serie de datos que nos permitieron una investigación. Todas las relaciones familiares, tanto en el punto de vista clínico como en el de laboratorio, con el defecto de G6PDH, se hicieron a

FAMILIA M. P. S. Naturales de Illora (Granada)

Entramos en contacto con esta familia a través del doctor don Juan Muñoz, médico de este pueblo que asistió al hijo 3.º en plena crisis hemolítica y nos lo remitió para su estudio.

Los datos recogidos figuran en la *tabla XIV*, tanto en el enfermo remitido como en los demás miembros de la familia.

En el *abuelo paterno* no se pudo hacer estudio alguno.

La abuela materna no tenía datos personales de interés. Episodios dolorosos epigástricos irregulares que interpretamos como «gastritis». Los datos hematológicos son normales, así como los tests específicos para identificar la enzimopatía por GI-6-FDH.

El abuelo materno, que también se somete a nuestras exploraciones, está siendo sometido a tratamiento por padecer molestias de retención urinaria que le han sido diagnosticadas como prostatismo por probable adenoma prostático. Por lo demás, datos hematológicos y tests específicos son también normales.

La abuela paterna también se somete a exploración. Aparte dolores lumbares que padece en la actualidad, carece de antecedentes hemolíticos o accidentes en relación con la ingesta de habas. No hay datos anormales en su exploración de laboratorio.

El padre de esta familia tiene antecedentes de haber padecido manifestaciones urticáricas (habones) al haber entrado en un habar en alguna ocasión. Ningún otro dato orientador. Las determinaciones enzimáticas y test de Beutler son normales.

La madre cuenta que teniendo 8-9 años de edad y tras ingerir habas verdes tuvo vómitos abundantes. Al día siguiente ictericia muy intensa, mialgias en piernas, brazos y región lumbar y orinas como coñac. El cuadro duró 7-8 días, cediendo espontáneamente. Con 18 años de edad, de nuevo y tras la ingesta de habas verdes (no las había vuelto a tomar hasta entonces), nuevo cuadro parecido. Con 27 años vuelve a probar habas verdes y se repite el cuadro con más intensidad, acompañándose los dolores lumbares de ictericia franca. Todo desaparece espontáneamente a los 7-8 días. En vista de esto no ha vuelto a probar el fruto.

Datos de laboratorio: GSH basal normal. Test de Beutler

anormal. Test visual: revela muy escasa actividad Gl-6-FDH. Test espectrofotométrico: corrobora cuantitativamente la muy escasa actividad Gl-6-FDH de sus hematíes. *Es por tanto portadora del rasgo enzimopático.*

El hijo 1.º no tiene antecedente patológico alguno. Los datos de laboratorio revelan una cifra de GSH basal baja (34 mg. %) con una respuesta prácticamente normal al test de Beutler. Actividad Gl-6-FDH normal.

La hija 2.ª no tiene antecedentes de ninguna clase. No obstante, y a pesar de un GSH basal normal y respuesta normal al test de Beutler, la actividad Gl-6-FDH (test visual y test espectrofotométrico) se muestra relativamente baja. *Posible portadora del rasgo.*

El hijo 3.º (gemelo bivitelino del siguiente) cuenta la siguiente historia, motivo del descubrimiento de esta familia: tres días antes, toma de habas crudas en abundancia. Desde un par de horas después, vómitos, palidez, dolor de abdomen y mialgias. Orinas color vino tinto. Anuria desde hace 24 horas. En el día de hoy, estado de semiobnubilación. Discreta ictericia aparecida desde ayer. En el primer hemograma hay 1.190.000 hematíes. Test de Coombs (directo e indirecto) negativos. Después de 3 transfusiones de sangre fresca total (unos 750 c. c.) viene a nuestro Servicio, ya muy recuperado. Han pasado 4 días desde el comienzo.

Hemograma: 5.200.000 hematíes. GSH basal bajo (39 mgr.) y Beutler poco expresivo. Actividad Gl-6-FDH (test visual y espectrofotométrico) francamente baja, casi ausente. En resumen: *portador del rasgo* (completo ?).

Los hijos 4.º y 5.º (hembras) carecen de antecedentes patológicos. Las exploraciones enzimáticas son normales.

Véanse datos resumidos en *tabla XIV.*

TABLA XIV

DATOS CLINICOS Y HEMATOLOGICOS DE LA FAMILIA M. P. S. (ILLORA, GRANADA), PORTADORA DEL DEFECTO ENZIMATICO EN GLUCOSA-6-FOSFATO-DEHIDROGENASA

<i>Miembro</i>	<i>Edad</i>	<i>Clínica</i>	<i>Hematíes</i>	<i>GSH</i>		<i>Gl-6-FDH</i>	
				<i>Basal</i>	<i>Beutler</i>	<i>Visual</i>	<i>Espectrof.</i>
A. S. C. Abuela paterna	67	Lumbalgia	3,5 m.	49	46	18 m.	248 Uds.
A. M. C. Abuelo materno	65	Prostatismo	4,5 m.	60	58	22 m.	266 Uds.
C. A. M. Abuela materna	61	Gastritis	4,0 m.	46	39	15 m.	290 Uds.
M. P. S. Padre	43	Urticaria con habas	4,5 m.	53	42	20 m.	265 Uds.
R. M. A. Madre	38	FAVISMO	4,3 m.	59	13	55 m.	50 Uds.
A. P. M. Hijo 1.º	14	V.S.	5,0 m.	34	29	22 m.	221 Uds.
M. P. M. Hija 1.º	9	V.S.	4,5 m.	43	38	35 m.	198 Uds.
M. P. M. Hijo 3.º	4	FAVISMO	4,2 m.	39	32	60 m.	40 Uds.
M. P. M. Hija 4.º	4	V.S.	4,0	—	—	—	225 Uds.
I. P. M. Hija 5.º	16 m.	V.S.	4,0 m.	52	48	20	248 Uds.

Valores: GSH en mgr. por 100 c.c. de hematíes (normal 40-100 mgr.)
Gl-6-FDH:

Visual en minutos de decoloración (normal 8-32 minutos).

Espectrof. en unidades por 10^{-9} hematíes (normal 200-500 Uds).

FAMILIA E.S.S.

Oriunda de Atarfe (Granada).

Se reconoce el cuadro hematológico por una crisis experimentada por el hijo 2.º, de 5 años, que es traído en grave estado a la Clínica Universitaria de Pediatría (Prof. Dr. A. Galdó Villegas), en donde realizamos las primeras exploraciones enzimáticas. Recogemos datos de padre y madre, aparte el niño enfermo, que están resumidos en la *tabla XV*.

El padre vive sano y no tiene antecedentes relacionados con la historia de su hijo. Hepatitis con 26 años. Exploración clínica normal.

Datos hematológicos, GSH y Beutler y datos enzimáticos normales.

La madre también vive sana actualmente. No recuerda antecedentes familiares ni personales de favismo. Exploración física normal.

Datos hematológicos: hematíes, 4.200.000. Hemoglobina, 78 por 100.

GSH: valor basal normal (límite inferior: 48 mgr. %). Tras test de Beutler gran reducción (23 mgr. %, más del 50 %). Actividad Gl-6-FDM (test espectrofotométrico): 179 Uds, es decir, por debajo de la norma.

Se trata, pues, de una *portadora (al parecer incompleta) del rasgo*.

El hijo 1.º está ausente. No se pueden hacer exploraciones.

Su madre recuerda que un par de ocasiones, tras la ingesta de habas verdes, ha tenido orinas como vino tinto y algunas molestias generales. (*Portador del rasgo ?*)

El hijo 2.º, de 5 años, sin antecedentes de interés, hace 5 días tomó varios granos de habas verdes. A las 48 horas, cuadro de vómitos, astenia, escalofríos, obnubilación y color amarillo de piel. Se traslada inmediatamente a Granada. A la exploración llama la atención su estado general grave. Palidez-subictericia de piel y mucosas. Hemograma: 2.800.000 hematíes. Recibe trans-

fusión inmediata de 100 c. c. y luego otra de 200 c. c., sangre fresca, total.

Nuestras exploraciones, efectuadas a los 5 días del accidente, revelan: hematíes, 3.200.000. Hemoglobina, 63 por 100. GSH basal, 35 mgr. (bajo), y Beutler, 23 mgr. (dudoso). Actividad Gl-6-FDH (espectrofotométrico): 175 Uds. *Varón portador del rasgo.*

TABLA XV

DATOS CLINICOS Y HEMATOLOGICOS DE LA FAMILIA E. S. S. (ATARFE, GRANADA), PORTADORA DE DEFECTO ENZIMATICO EN GLUCOSA 6-FOSFATO-DEHIDROGENASA

Miembro	Edad	Clínica	Hemáticas	GSH		Gl-6-FDH	
				Basal	Beutler	Visual	Espectrof.
E. S. S. Padre	42	Catarros	4,6 m.	74	47	—	372 Uds.
M. A. G. Madre	42	V.S.	4,2 m.	48	23	—	179 Uds.
E. S. A. Hijo 1.º	14	Tras ingesta de habas orinas hematóricas. Ausente.					
J. S. A. Hijo 2.º	5	FAVISMO	3,2 m.	35	23	—	175 Uds.

FAMILIA M. H. M.

Oriundos de Santafé.

Raza gitana.

Se descubrió esta familia por el cuadro hemolítico agudo de mediana intensidad experimentado por el hijo 3.º, de 3 años. Ingresado en el Servicio de la Clínica Universitaria de Pediatría (Prof. Dr. A. Galdó Villegas), también iniciamos aquí la investigación, si bien, como en los dos casos anteriores, hubimos de desplazarnos al pueblo de origen para investigar otros familiares.

Los resultados están expuestos en forma resumida en la *tabla XVI*.

La abuela materna pudo ser estudiada. Personalmente no recuerda antecedentes de interés. Sin embargo, cuenta que *una hija y varios nietos suyos han tenido accidentes graves con orinas oscuras después de tomar habas verdes*. La exploración física es normal. Datos hematológicos también. Actividad Gl-6-FDH (espectrofotométricamente), 250 Uds., es decir, dentro de la norma.

¿Portadora del rasgo sin expresión bioquímica?

El padre vive sano. Nada de particular en sus exploraciones clínicas ni de laboratorio.

La madre corrobora la información dada por la abuela materna: algunos de sus sobrinos padecen cuadros parecidos a los ocurridos a sus hijos por ingerir habas verdes.

Personalmente, hace unos días tomó habas frescas y sintió ligeras molestias generales que no especifica. No puede entrar en un habar porque se marea, cuando están en flor, y posteriormente tiene orinas oscuras. Nunca ictericia. Bronquitis asmática.

Laboratorio: hematíes, 3,6 millones. Hemoglobina, 11 gramos por 100. GSH basal: 33 mgr. (valor bajo inicial) con Beutler no significativo. Actividad Gl-6-FDH: 196 Uds. (test espectrofotométrico), es decir, por debajo de la norma.

Portadora del rasgo con expresión clínica del mismo.

El hijo 1.º actualmente asintomático. Con 1 año de edad, cuadro de ictericia tras la ingesta de habas verdes. Datos hematológicos normales. GSH basal normal-bajo. Beutler intensamente

positivo. Actividad Gl-6-FDH: 75 Uds. (déficit muy intenso).

Se trata, pues, de un *portador del rasgo completo*.

El hijo 2.º es normal. No hay antecedentes. La exploración clínica y de laboratorio no arroja ningún dato sospechoso.

El hijo 3.º, de 3 años, varón, no tenía antecedentes anormales.

Hace 4 días ingirió habas verdes y pasadas 48 horas comenzó con molestias difusas en abdomen y fiebre alta, vómitos y subictericia. Desde hace 4 días, orinas como vino tinto.

A la exploración física hay ictericia discreta de piel y mucosas. Taquicardia. Hígado a 2 traveses doloroso. Laboratorio: hematíes, 1.270.000.

Se practica transfusión en el mismo día del ingreso (250 c. c.).

A los 7 días del accidente es estudiado por nosotros. Hematíes, 3.000.000. GSH basal normal-bajo (45 mgr. %). Beutler intensamente positivo (9 mgr. %): Actividad Gl-6-FDH (espectrofotométricamente): 180 Uds. (por debajo de la norma).

Varón portador del rasgo.

(Véase *tabla XVI*.)

TABLA XVI

DATOS CLINICOS Y HEMATOLOGICOS DE LA FAMILIA E. H. M.
(SANTAFE, GRANADA), PORTADORA DE DEFECTO ENZIMATICO
EN GLUCOSA-6-FOSFATO-DEHIDROGENASA

<i>Miembro</i>	<i>Edad</i>	<i>Clinica</i>	<i>Hematies</i>	<i>GSH</i>		<i>Gl-6-FDH</i>	
				<i>Basal</i>	<i>Beutler</i>	<i>Visual</i>	<i>Espectrof.</i>
A. H. M. Abuela materna	62	V.S.	4,3 m.	55	46	—	250 Uds.
M. H. M. Padre	31	V.S.	4,5 m.	72	64	—	265 Uds.
M. R. H. Madre	28	FAVISMO	3,6 m.	33	26	—	196 Uds.
M. H. R. Hijo 1.º	10	FAVISMO	4,0 m.	46	0	—	75 Uds.
A. H. R. Hijo 2.º	8	V.S.	4,4 m.	52	50	—	277 Uds.
J. H. R. Hijo 3.º	3	FAVISMO	3,0 m.	45	9	—	180 Uds.

FAMILIA A. R. S.

(Estudios en madre y 3 hijos.)

Padre (†), natural de Guadix (Granada).

Madre, natural de Madrid.

El descubrimiento de esta familia (estudiada incompletamente por causas ajenas a nosotros) se hace a través de la madre, ingresada en nuestro Servicio de Patología Médica con una cirrosis alcohólica de 6 años de evolución. Al efectuar test visual de Gl-6-FDH en todos los enfermos del Servicio se encuentra una actividad patológica, muy disminuida, por lo que se hace un estudio más detenido del cuadro.

El padre falleció hace 8 años con una cirrosis alcohólica. No se conocen antecedentes hemolíticos. Falleció en coma hepático con subictericia.

La madre, de 42 años, muestra al ingreso una cirrosis hepática de claro origen alcohólico, actualmente descompensada (ascitis y diatesis hemorrágicas). Llama la atención su intensa anemia (2.200.000 hematíes) y la presencia de eritroblastos en sangre periférica. Sideremia: 200 gammas por 100. Lípidos totales: 1.000 mgr. por 100. Colesterinemia total: 298 mgr. por 100. Se sospecha un *síndrome de Zieve*. La actividad Gl-6-FDH revela un test visual de 50 minutos (déficit parcial) y 100 Uds. Se trata, al parecer, de una *portadora intermedia del déficit*. No hay antecedentes hemolíticos agudos. Llama la atención, en cambio, su cuadro hematológico que hace pensar que sea expresión de una forma crónica del defecto enzimático en cuestión. Por este motivo se hace exploración también en los hijos. (Otros familiares no guardan relación con la enferma.)

El hijo 1.º, 17 años, vive sano. No hay antecedentes de interés. La actividad Gl-6-FDH se muestra deficitaria (visual, 40 minutos; espectrofotométrica, 150 Uds.). Es, pues, un *portador incompleto del rasgo*.

Los hijos 2.º y 3.º viven sanos, no hay antecedentes en ellos

y sus exámenes hematológicos y enzimáticos revelan valores normales.

Creemos que se trata en esta familia de una forma clínica de carácter crónico expresada por una anemia hemolítica que acompaña a la cirrosis hepática de la madre.

(Véanse resultados resumidos en tabla XVII.)

Fecha	Hemoglobina (g)	Hematocrito (%)	Glucosa (mg/dl)	Urea (mg/dl)	Urea (mg/100ml)
1951-11-15	10.5	32	100	15	15
1951-12-15	10.0	30	100	15	15
1952-01-15	10.0	30	100	15	15
1952-02-15	10.0	30	100	15	15

TABLA XVII

DATOS CLINICOS Y HEMATOLOGICOS DE LA ENFERMA A. R. S. E HIJOS. PROBABLE FORMA CRONICA DE DEFECTO ENZIMATICO EN GLUCOSA-6-FOSFATO-DEHIDROGENASA

<i>Miembro</i>	<i>Edad</i>	<i>Clinica</i>	<i>Hematies</i>	<i>Visual</i>	<i>Gl-6-FDH Espectr.</i>
Padre (†) A. R. S. Madre	42	Cirrosis alcohólica. Anemia hiperchroma- megaloblástica. Síndrome de Zieve. Lípidos totales: 1.000 mgr. Colesterinemia: 298 mgr.	2,2 m. Presencia de eritro- blastos.	50 m.	100 Uds.
J. B. R. <i>Hijo 1.º</i>		V.S.	4,5 m.	40 m.	150 Uds.
R. B. R. <i>Hijo 2.º</i>		V.S.	5,0 m.	26 m.	200 Uds.
A. B. R. <i>Hijo 3.º</i>		V.S.	4,5 m.	23 m.	200 Uds.

FAMILIA M. G. M.

Nacidos en Granada.

Se descubre en esta familia una tara hematológica que no es objeto directo de nuestro estudio, pero que por haberse mencionado ocasionalmente el hecho de existir asociaciones entre ambos rasgos fue estudiada también. El reconocimiento de la tara se hace a través de *la madre*, que acude a nuestra consulta privada «para enterarse de la enfermedad que tiene». No hay antecedentes de nacimiento ni en los primeros años de vida. Con 3 años, sarampión muy fuerte en el transcurso del cual se puso muy amarilla. Pasada la infección quedó el tinte ictérico que ya nunca más ha vuelto a desaparecer, persistiendo con alternativas de intensificación y debilitamiento del color de la piel. Siempre que se resfría y tiene fiebre se intensifica la ictericia.

Antecedentes personales: nada aparte de lo indicado.

Antecedentes familiares: por parte paterna recuerda que sus parientes «siempre están verdes» (es decir, de color subictérico).

Ha tenido dos hijos (V. y H.) que están subictéricos ocasionalmente. Por lo demás, sin interés.

Exploración física: subictericia manifiesta de piel y mucosas. Frente ancha. Se palpa *bazo 2 traveses*. Hígado dudoso. Extremidades normales.

Hemograma: 5.800.000 hematíes. Micro- y poiquilocitosis marcadas. Punteado basófilo frecuente en hematíes. Policromatofilia ostensible. *Dianocitos aislados*. No proeritro- ni eritroblastos. Aumento discreto de resistencia globular. Bilirrubina total, 2'5 (D:O'4,I: 2'1). Diagnóstico: *Talassemia forma minor-minima* (informa: Dr. E. Raya y Raya).

Padre: vive sano. No hay datos de interés.

Los hijos: muestran subictericia ocasional desde los primeros años de vida. Por lo demás viven sanos.

Los estudios enzimáticos fueron completamente normales en

padre, madre e hijos, así como en una hermana de la madre con manifestaciones similares a ella.

Se trata, pues, de un cuadro talasémico no imbricado con déficit enzimático de Gl-6-FDH (véanse datos resumidos en tabla XVIII).

TABLA XVIII

DATOS CLINICOS Y HEMATOLOGICOS DE LA FAMILIA M. G. M. (GRANADA) PORTADORES DE TARA *TALASSEMIA MINOR-MINIMA* POR RAMA MATERNA

Miembro	Edad	Clínica	Hematies	GSH Basal	Beutler	GI-6-FDH Espectrof.
M. G. M. Padre	34	V.S.	4,2 m.	64	55	253 Uds.
C. P. G. Madre	33	Subictérica de siempre.	3,2 m.	66	60	375 Uds.
D. P. G. Hermana madre	35	Subictérica de siempre.	3,9 m.	69	59	288 Uds.
J. G. P. Hijo 1.º	6	V.S.	4,3 m.	44	43	269 Uds.
I. G. P. Hija 2.ª	4	Tinte subictérico incipiente.	3,4 m.	53	53	337 Uds.

PACIENTE M. A. S. (Mohamed Ali Salih)

21 años. Soltero.

Natural de Amman (Jordania).

Se reconoce este nuevo caso por el cuadro clínico agudo que motiva su ingreso en nuestro Servicio y ulterior reconocimiento de la afección. Los antecedentes carecen de interés. No recuerda en padres o familiares la existencia de crisis semejantes o cuadros afines.

Cuatro días antes de su ingreso tomó aproximadamente un kilogramo de habas crudas. Al día siguiente comenzó a notar mareos y gran astenia. A las 48 horas, orinas como vino tinto. Este mismo día comienza a ponerse amarillo. Al aumentar su abatimiento y sensación de falta de vida ingresa en nuestro Servicio. *La exploración clínica* revela un sujeto joven, con rasgos semíticos acusados, gran postración y sensación de enfermedad grave. Color icterico intenso de piel y mucosa. Cierta grado de obnubilación. Taquipnea: 40 r. p. m. Taquicardia. No hígado ni bazo. Reflejos apagados.

Laboratorio: hematíes, 2.100.000. Hemoglobina, 40 por 100. Hematocrito, 21 por 100. Leucocitos, 11.40. Anisocitosis acusada con óvalo y poiquilocitos. Test de Coombs (—). V. de S. 70/140. Bilirrubina d. 0,6, ind. 5,9; T.: 6,5 mgr.

Otras determinaciones:

Transaminasas	GOT	115 Uds.	Wr.
	GPT	15	»
Pruebas funcionales hepáticas	negativas.		
GSH basal	64 mgr. por 100 c. c. de hematíes.
tras Beutler	14 » » »
reducción %	77
Gl-6-FDH (espectr.)	12 Uds.

Se trata, pues, de un caso de hemolisis aguda tras ingestión de habas, es decir, de un cuadro de *favismo*. La recuperación, tras transfusiones en días sucesivos, se produjo rápidamente.

Desgraciadamente, por razones obvias, fue imposible obtener sangre de familiares.

XVII

COMENTARIO

En las líneas anteriores hemos ofrecido el fruto de nuestra investigación sobre 1.002 personas de diverso origen y procedencia, en las cuales intentamos esclarecer diversos puntos sobre la enzimopatía por déficit de Gl-6-FDH eritrocitaria entre la población española y concretamente en la provincia de Granada.

Ante todo deseábamos conocer la *incidencia* de esta tara entre nosotros: con qué frecuencia está presente este defecto en nuestra población. En el capítulo II nos referíamos a este aspecto en muy diversos países del globo. Y si bien entre la población española conocíamos su existencia por algunas publicaciones aisladas (55, 150), incluidas las propias en colaboración con Peláez Redondo y Mora Lara (151, 160), sin embargo no podíamos contestar exactamente a la pregunta planteada. Tras el trabajo actual podemos decir que el déficit enzimático por Gl-6-FDH se presentó en una forma globalmente considerada en 43 personas de 978. A fin de no alterar los resultados, no van incluidos en el cálculo aquellos familiares que tras el hallazgo de un caso fueron también estudiados. Así, pues, *la enzimopatía por Gl-6-FDH se dio en el 4,42 por 100 de la población estudiada.*

Un segundo aspecto a considerar es con qué frecuencia se da entre nosotros el rasgo completo, así como el rasgo incompleto. También ahora podemos contestar que, siguiendo como norma los resultados del test visual, *encontramos un déficit completo en 11 sujetos, es decir, en un 1,12 por 100 de la población de nuestra provincia.* No obstante, el hecho de que exista este fallo enzimático y su detección bioquímica no presupone la existencia obligada de manifestaciones clínicas que pongan esta tara de manifiesto. Así, sólo 5 entre las 11 personas portadoras del déficit completo dieron manifestaciones clínicas expresivas del rasgo; 6 más no tenían manifestación alguna en relación con esta deficiencia y permanecían totalmente asintomáticos al respecto.

Por tanto, sólo un 0,51 por 100 de la población estudiada tenía una expresión clínica de la enzimopatía por déficit de Gl-6-FDH. Muy interesante es también señalar que el déficit completo en estas 11 personas tuvo lugar en 10 varones y sólo en 1 hembra, dato importante para la interpretación de los mecanismos de transmisión genética de la tara. Se viene llamando la atención últimamente (Burka y cols., 34) sobre el hecho de la asociación del déficit Gl-6-FDH con otras entidades patológicas. Se han descrito asociaciones con infecciones de diversa índole, acidosis diabética, hepatitis aguda y crónica, nefritis, etc. También nosotros al investigar grupos de enfermos con cuadros de índole diversa hemos encontrado que 6 de los 11 hallados con déficit total presentaban cuadros simultáneos, a saber:

- cáncer laríngeo
- cáncer de mama
- diabetes mellitus
- aortitis luética
- anemia aplásica (probable leucosis en fase aleucémica)
- cirrosis hepática con anemia megaloblástica.

No nos atrevemos a pronunciarnos sobre la significación de tales asociaciones. En un caso (cirrosis y anemia megaloblástica) se pudo hacer estudio enzimático en los 3 hijos de la paciente. Y encontramos datos similares a los que obtuvimos de otras familias: la madre portadora del déficit, si bien con carácter incompleto; y uno de los hijos, portador también de la enzimopatía, en forma asintomática. No sabemos si tales asociaciones son puramente fortuitas en personas que padecen la tara por transmisión hereditaria y en las que se implanta con alcance individual exclusivo un nuevo proceso patológico. La ceguera a los colores, descrita por otros (Szeinberg y cols., 195, 196), parece ir asociada en ciertos casos a esta tara enzimática por razones de tipo genético.

El déficit incompleto se presentó en 32 personas, o sea, en un 3,25 por 100 de la población estudiada; de ellos, 20 eran mujeres y 13 varones. Dadas las necesarias limitaciones del test visual utilizado por nosotros, no nos atrevemos a extraer más conclusiones a este respecto. Únicamente llamamos la atención sobre la mayor incidencia del sexo femenino en esta forma incompleta del rasgo, en todos los casos asintomática (a excepción de un par de casos, madres de familias estudiadas, en las que

existían antecedentes de crisis hemolíticas tras la ingestión de habas verdes).

Con respecto a los métodos de detección de la enzimopatía por déficit de Gl-6-FDH, nos atrevemos a afirmar que el test visual (test de Motulski con la modificación del azul de metileno de Tonz y Betke) es válido, tanto para la detección de formas completas del rasgo como para la de formas incompletas. Basamos esta afirmación en la comparación con los resultados del test espectrofotométrico y las manifestaciones clínicas de aquellos casos manifiestos. Por supuesto, el test espectrofotométrico es de mayor precisión, si bien la valoración del mismo debe hacerse también teniendo en cuenta la proximidad de la última crisis hemolítica y el porcentaje de población eritrocitaria joven, datos éstos que nosotros no pudimos calibrar por completo.

En cambio, *nos ha resultado decepcionante la determinación de GSH en hematíes y el test de Beutler*. La determinación de valores basales de GSH ya fue desechada por Beutler personalmente tras una experiencia prolongada (20), y en su lugar fue propuesta la incubación de los hematíes en solución glucosada de acetil-fenil-hidrazina (AFH). En los hematíes tarados la reducción del GSH basal tras esta maniobra sería siempre ostensible y serviría como test indirecto para la detección de la tara. En nuestras manos no ha sido siempre así: en primer lugar, la cifra de GSH basal se muestra muy variable, no en grupos de población sana, pero sí en pacientes con cuadros diversos (por ejemplo, en enfermos con cirrosis y hepatitis, en pacientes con neoplasmas). La reducción tras incubación en AFH también se muestra muy variable en diversas afecciones (los enfermos hepáticos parecen tener un GSH eritrocitario muy inestable); por tanto, no se puede considerar esta prueba como de valor para la detección del rasgo. En tercer lugar, si bien en la mayor parte de los deficitarios en Gl-6-FDH se pueden dar cifras basales de GSH bajas y reducciones a veces clarísimas tras el test de Beutler, otras veces no ocurre así (véanse *gráficas 5 y 6*). Por último, la excesiva manipulación que exige hace de las determinaciones de GSH algo muy trabajoso y pesado. El haber efectuado más de 800 determinaciones de esta índole creemos que nos autoriza a afirmar lo anterior. *Insistimos, por tanto, en el valor innegable del test visual como test de despistaje e incluso semicuantitativo*, coincidiendo con Richerich (163).

No podemos establecer demasiadas aseveraciones con respecto a los discutidos *mecanismos de transmisión genética del*

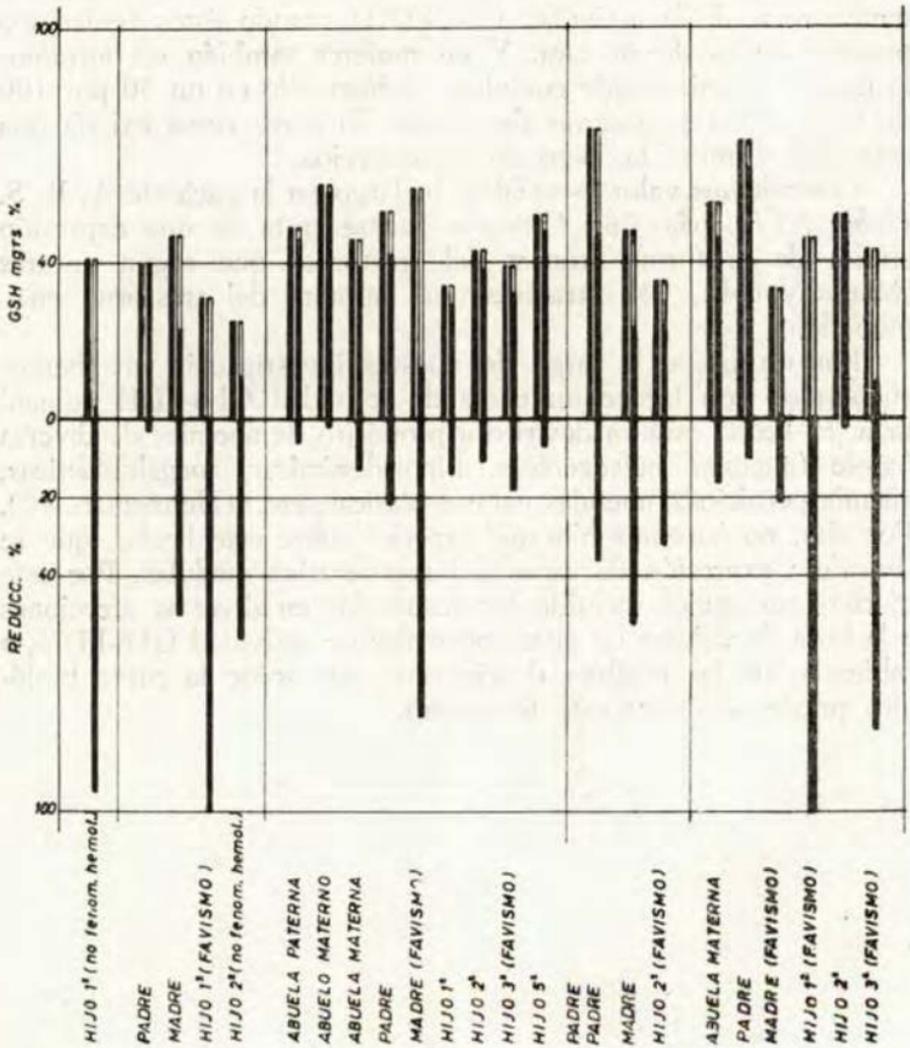
trastorno. Efectivamente, parece tratarse de una tara transmitida por vía materna. En todas las familias estudiadas por nosotros el defecto se transmitía a través de la vía materna. En los varones se dio casi exclusivamente (en 10 de 11 casos) el trastorno con carácter completo (es decir, con una ausencia prácticamente total de la actividad Gl-6-FDH) cuando éstos tenían expresión clínica de su tara. Y en mujeres también encontramos la tara bioquímicamente completa, si bien sólo en un 50 por 100 de las mujeres postadoras del rasgo. En otros casos existía una actividad disminuida, pero no desaparecida.

Concedemos valor especial al hallazgo en la paciente A. R. S. (*tabla XVII*, pág. 98). Creemos que se trata de una expresión clínica de la forma crónica del trastorno, que según autores (Marks y cols., 130) traduce una mutante del trastorno enzimopático.

Por último, a lo largo de nuestra investigación nos hemos encontrado con frecuentes casos de actividad Gl-6-FDH aumentada. El hecho está ya descrito a propósito de anemias de diversa índole (anemias nefrogénicas, hiposiderémicas, megaloblásticas, anemia perniciosa, anemias paraneoplásicas, etc.) (Henneman, 90). Por ello, no hacemos hincapié especial sobre este hecho, que se considera expresión de capacidad regenerativa medular. Por este motivo, no hemos incluido los resultados en diversas afecciones a la hora de valorar las cifras normales de actividad Gl-6-FDH, a sabiendas de las posibles desviaciones que sobre la curva biológica puede ocasionar este fenómeno.

GRAFICA 5

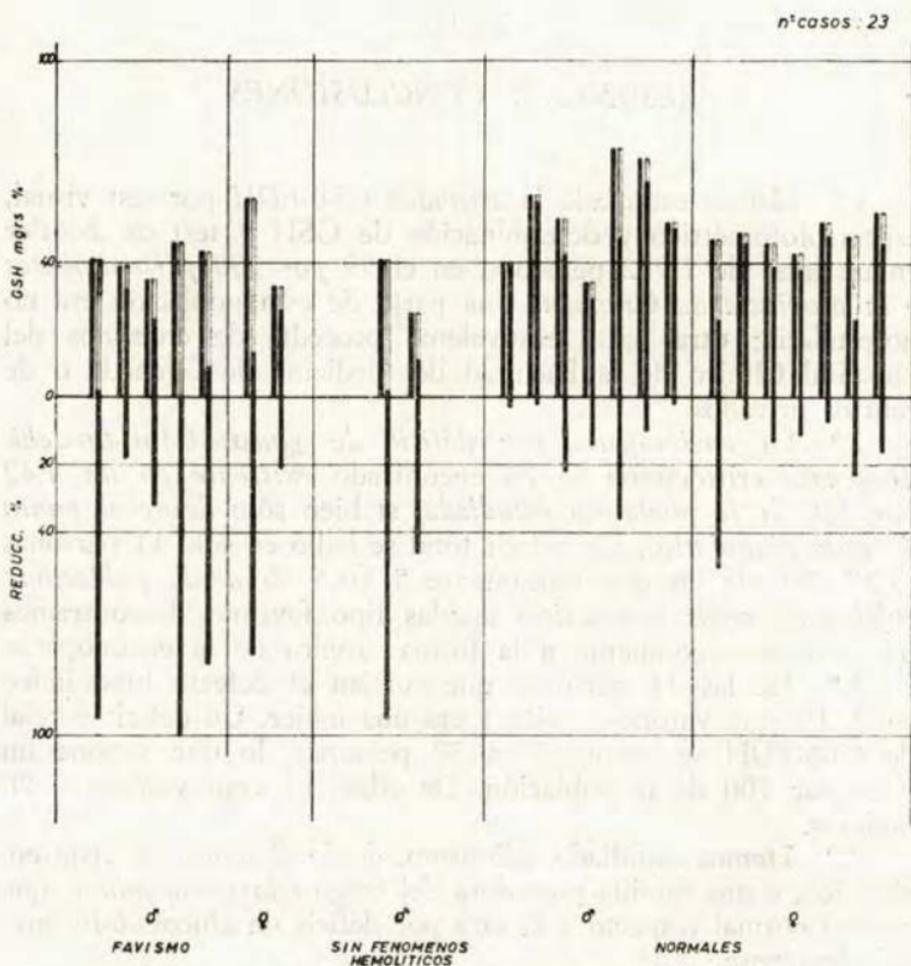
VALORES DE GSH BASAL Y TRAS TEST DE BEUTLER EN MIEMBROS DE 5 FAMILIAS CON FAVISMO



Están incluidos los resultados de las dos primeras familias descubiertas por nosotros y publicadas previamente, a fin de presentar más resultados

GRAFICA 6

VALORES DE GSH BASAL Y TRAS TEST DE BEUTLER EN MIEMBROS DE 5 FAMILIAS CON FAVISMO



Se hace la misma observación anterior.

En esta gráfica están agrupados los miembros según sexo a fin de estudiar el posible comportamiento de las cifras de GSH basal y tras incubación en AFH (test de Beutler).

XVIII

RESUMEN Y CONCLUSIONES

1.º Hemos estudiado la *actividad Gl-6-FDH* por test visual, espectrofotométrico y determinación de GSH y test de Beutler en un total de 1.002 personas, en el 99 por 100 pertenecientes a la provincia de Granada. Una parte de esta población era no hospitalaria; otra parte equivalente procedía de enfermos del Hospital Clínico de la Facultad de Medicina de Granada o de centros privados.

2.º La *enzimopatía por déficit de glucosa-6-fosfato-dehidrogenasa* eritrocitaria se ha encontrado existente en un 4,42 por 100 de la población estudiada, si bien sólo desde el punto de vista bioquímico. Un déficit total se halló en sólo 11 personas (3,25 %), de las que únicamente 5 (0,5 % de la población) sufrían de crisis hemolíticas agudas tipo favismo. Encontramos un caso correspondiente a la forma crónica de la enzimopatía.

3.º De las 11 personas que sufrían el defecto bioquímico total, 10 eran varones y sólo 1 era una mujer. Un déficit parcial de Gl-6-FDH se encontró en 32 personas, lo que supone un 3,25 por 100 de la población. De ellas, 13 eran varones y 20 mujeres.

4.º Hemos estudiado, asimismo, desde el punto de vista enzimático, a una familia portadora del rasgo *talasemia minor*, que resultó normal respecto a la tara por déficit de glucosa-6-fosfato-dehidrogenasa.

5.º Describimos, asimismo, las asociaciones del defecto enzimático en cuestión con otros procesos patológicos, cosa que encontramos en 6 de nuestros pacientes.

6.º Fueron estudiadas detenidamente 5 familias en todos o casi todos sus miembros a nivel de dos generaciones, en las cuales se descubrió la existencia del rasgo patológico por déficit de glucosa-6-fosfato-dehidrogenasa.

7.º Respecto a los métodos para detección de esta enzimo-

patía, creemos, como fruto de nuestra experiencia personal, que *el test visual de Tonz y Betke tiene valor indudable como test de despistaje* e incluso para la detección de portadores intermedios. En cambio, la determinación de GSH y el test de Beutler están sujetos a muchas oscilaciones que limitan su valor.

8.º Tras consultar la bibliografía, creemos sinceramente que se trata de uno de los trabajos más extensos efectuados hasta la fecha dedicados al estudio de esta enzimopatía, y que permite por vez primera en nuestro país precisar con aproximación grande la incidencia de este rasgo entre nuestra población, al menos en Andalucía Oriental.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Adam, A., «Nature» 189, 686, 1961.
- 2 Allison, A. C., «Nature» 186, 531, 1960.
- 3 Allison, A. C., y Clyde, «Brit. Med. J.» 1, 1346, 1961.
- 4 Allison, A. C.; Charles, L. S., y Mc Gregor, «Nature» 190, 1198, 1961.
- 5 Albahary, C.; Auffret, M., y Legrand, J. L., «Press med.» 76, 371, 1968.
- 6 Alving, A. S.; Arnold, Kellermeyer, R. W.; Schrier y Carson, «Ann. Int. Med.» 49, 240, 1958.
- 7 André, R.; Dreyfuss, B.; Malassenet, R., y Sultan, C., «Nouvelle Rev. Franc. d'Hématologie» 5, 431, 1965.
- 8 Bernasconi, C.; Bedorida, G.; Pollini, G., y Sartori, S., «Haematologica» 46, 697, 1961.
- 9 Betche, W. K., «Dtsch. med. Wschr.» 18, 911, 1962.
- 10 Beutler, E.; Dern, R. J., y Alving, A. S., «J. Lab. Clin. Med.» 44, 177, 1954.
- 11 Beutler, E.; Dern, R. J.; Alving, A. S., «J. Lab. Clin. Med.» 44, 439, 1954.
- 12 Beutler, E.; Dern, R. J., y Alving, A. S., «J. Lab. Clin. Med.» 45, 40, 1955.
- 13 Beutler, E.; Dern, R. J.; Flanagan, C. L., y Alving, A. S., «J. Lab. Clin. Med.» 45, 286, 1955.
- 14 Beutler, E., «J. Lab. Clin. Med.» 49, 84, 1957.
- 15 Beutler, E.; Robson, M., y Bittenweiser, E., «J. Clin. Invest.» 36, 617, 1957.
- 16 Beutler, E.; Yeh, M.; Ky, y Necheless, T., «Nature» 183, 684, 1959.
- 17 Beutler y cols., «Lancet» 116, ix, 1968.
- 18 Beutler, E., y Parkes, R. S., «Lancet» i, 95, 1964.
- 19 Beutler, E.; Baluda, M., y Duarte, Comun. al IX Congreso de la Soc. Intern. de Hematología. Lisboa 1963.
- 20 Beutler, E., en *Metabopatías hereditarias*, de Stambury. Salvat, Barcelona 1965.
- 21 Bock, H. E.; Waller, H. D.; Lohr, G. W., y Karges, O., «Klin. Wschr.» 36, 151, 1958.
- 22 Bousser, S., y Boivin, J., «Rev. Clin. Esp.». Suplemento 1, 27, 1964.
- 23 Bowman, J. E., y Walker, D. G., «Nature» 189, 555, 1961.
- 24 Bowman, H., y Procopio, F., «Ann. Int. Med.» 58, 567, 1963.
- 25 Boyer, A.; Porter, I. H., y Weilbacher, R. G., «Proc. Nat. Acad. Sci.». U.S.A. 48, 1868, 1962.
- 26 Bracha, R.; Cheba, C.; Adam, A., y Ashkenazi, I., «Nature», 185, 931, 1960.
- 27 Brewer, G. J.; Tarlow, A. R., y Kellermeyer, «J. Lab. Clin. Med.» 58, 217, 1961.

- 28 Brewer, G. J.; Alvin, R., y Alving, A. S., «J.A.M.A.» 180, 386, 1962.
- 29 Brunetti, M.; Grignani, F., y Lulis, E., «Haematologica» 44, 837, 1959.
- 30 Brunetti, P.; Puxeddu, A., y Nenci, G., «Haematologica» 47, 505, 1962.
- 31 Brunetti, P.; Grignani F., y Ernisli, «Acta Haemat. Basel» 27, 146, 1962.
- 32 Bruns, F. H.; Broswitz, A.; Denneman, H. N.; Horn, H. D., y Voltmann, E., «Klin. Wschr.» 39, 342, 1961.
- 33 Bruns, F. H., y Werner, P. H., «Advances Clin. Chem.» 5, 237, 1962.
- 34 Burka, E. R.; Weaver, Z., y Marks, D. A., «Ann. Int. Med.» 64, 817, 1966.
- 35 Cahill, K. H., «J.A.M.A.» 180, 119, 1962.
- 36 Carson, P. E.; Flanagan, C. L.; Ikes, C. E., y Alving, A. S., «Science» 124, 484, 1956.
- 37 Carson, P. E., Com. al IX Congreso de la Soc. Intern. de Hematología. Lisboa 1963.
- 38 Mc Carty, «Lancet» 748, 1955.
- 39 Chan, Todd y Wong, «Brit. Med. J.» 2, 102, 1964.
- 40 Chandantoud, L., «Press med.» 4, 132, 1959.
- 41 Charlton, R. W., y Bothwell, T. H., «Brit. Med. J.» 941, 1961.
- 42 Childs y Zinkham, W., «Bull. J. Hopkins Hosp.» 102, 21, 1958.
- 43 Choremis, C. L.; Zannos, Mariolea y Kattamis, D. C., «Lancet» 17, 1962.
- 44 Choremis, Kattamis y varios más, «Brit. Med. J.» 1240, 1963.
- 45 Cordes, W., citado en 20. Comunicación personal.
- 46 Cordes, W., citado en 20. «Arch. Achttts. Tropenhyg.» 32, 143, 1928.
- 47 Dacie, J. W., «Brit. Med. J.» 3.429, 1962.
- 48 Danon, D.; Sheba, Ch., y Ramot, B., «Blood» 17, 229, 1961.
- 49 Davidson, I., y Willis, B., *Diagnóstico Clínico por el laboratorio*, 4.ª ed., pág. 162, 1966.
- 50 Dawson, J. P.; Thayer, W., y Desforgues, J. F., «Blood» 13, 1113, 1958.
- 51 Dern, R. J.; Beutler, E., y Alving, A. S., «J. Lab. Clin. Med.» 44, 171, 1954.
- 52 Dern, R. J.; Westein, I. M., y varios más, «J. Lab. Clin. Med.» 43, 303, 1954.
- 53 Dern, R. J.; Beutler, E., y Alving, A. S., «J. Lab. Clin. Med.» 45, 30, 1955.
- 54 De Toni, G., «Rev. Clin. Esp.» Supl. 1, 49, 1964.
- 55 Díaz Calero, J., publicación de la Dip. Prov. de Málaga, 1958.
- 56 Dickens, F., «Ann. N.Y. Acad. Sci.» 75, 71, 1958.
- 57 Dimand, E.; Landsberg, E., y London, I. M., «J. Biol. Chem.» 213, 769, 1955.
- 58 Dimson, S. B., y Mc Martin, R. B., «Quart. J. Med.» 15, 25, 1946.
- 59 Dische, Z., «Ann. N.Y. Acad. Sci.» 75, 129, 1958.
- 60 Dittrich, P. V., «Klin. Wschr.» 40, 1075, 1962.
- 61 Dodin, M. A., «Press med.» 73, 1248, 1965.
- 62 Doxiadis, S. A., y varios más, «Lancet» 1, 297, 1961.
- 63 Dreyfuss, M.; Bessis, J. C., y Caplan, «Press med.» 34, 2028, 1964.
- 64 Dustin, «Rev. Belg. Sc. Med.» 2, 48, 1942.
- 65 Earle, D. P., y varios, «J. Clin. Invest.» 27, 121, Supl. 1948.

66. Editorial, «Lancet» ii, 951, 1964.
67. Elis, H. A., y Kirkman, H. N., cit. en 20.
68. Erdohazi, M., y Higman, W., «Lancet» II, 1274, 1962.
69. Farreras, P., en *Pat. y Clin. Med.*, de A. Pedro-Pons, T. V, pág. 290. Barcelona.
70. Feldman y varios, «J. Clin. Invest.» 26, 77, 1947.
71. Feldman y varios, «Blood» 8, 336, 1953.
72. Fessas y Doxiadis, «Brit. Med. J.» 1359, 1962.
73. Fessas, Doxiadis y varios, cit. en 20.
74. Flanagan, C. L.; Sharier, S. L.; Carson, P. E., y Alving, A. S., «J. Lab. Clin. Med.» 51, 600, 1958.
75. Fois, A.; Blagioli, M. L., y Contu, L., «Haematol.» 46, 178, 1961.
76. Fornani, G.; Leonini, G.; Luzzato, y Segni, G., «J. Clin. Invest.» 41, 1446, 1962.
77. Gant, F. L., y Winks, G. F., «Clin. Res.» 9, 27, 1961.
78. Gehrman, G.; Sturm, A., y Amelung, D., «Dtsch. med. Wschr.» 39, 1865, 1963.
79. Gelen, M. G., «Press med.» 17, 362, 1952.
80. Gelpi, A. P., cit. en 20.
81. George, J.; Brewer, M. D.; Alving, R., y Tarlow, «J. Lab. Clin. Med.» 59, 905, 1962.
82. Gilles, H. M.; Watson, J.; Williams y Taylor, B. G., «Nature» 185, 257, 1960.
83. Gilles, H. M., e Ikeme, A. C., «Lancet» 2, 889, 1960.
84. Glock, G. E., y Mc Lean, P., «Biochem. J.» 55, 400, 1953.
85. Greenberg, M. S., y Wong, H., «Clin. Res.» 7, 205, 1959.
86. Grignani, F.; Cornicchi, C.; Maxxia, C., y Larizza, P., «Klin. Wschr.» 38, 1171, 1960.
87. Grignani, F., y Burnetti, P., «Press med.» 14, 533, 1960.
88. Gross, R. T.; Hurwitz, R. E., y Marks, P. A., «J. Clin. Invest.» 37, 1176, 1958.
89. Gross, R. T., «Bull. N.Y. Acad. Med.» 39, 90, 1963.
90. Hennemann, H. N., «Klin. Wschr.» 41, 1014, 1963.
91. Heubner, W., «Klin. Wschr.» 21, 520, 1942.
92. Hochwald, R. S.; Arnold, J., y Clayman, C. B., «J.A.M.A.» 149, 1568, 1952.
93. Houston, I. B., «Lancet» ii, 1062, 1959.
94. Karlson, P., *Biochemie*. Georg-Thieme Verlag. Stuttgart 1961.
95. Kellermeyer, R. W.; Carson, P. E., y Schier, S. R., «Nature» 184, 192, 1959.
96. Kellermeyer y varios, «J. Lab. Clin. Med.» 58, 225, 1961.
97. Kellermeyer y varios, «J. Lab. Clin. Med.» 58, 715, 1961.
98. Kellermeyer y varios, «J.A.M.A.» 180, 388, 1962.
99. Kerpola, W.; Nikkila, E. A., y Pitkannen, E., «Act. Med. Scand.» 164, 357, 1959.
100. Kerpola, W.; Nikkila, E. A., y Pitkannen, E., «Acta Med. Scand.» 166, 17, 1960.
101. Kidson, C., «Nature» 190, 1120, 1961.
102. Kidson, C., y Gorman, J. G., «Nature» 196, 49, 1962.
103. Kidson, C., y Gorman, J. G., «Biochem. Biophys. Res. Comm.» 7, 268, 1962.
104. Kidson, C., IX Congreso Internac. Soc. Hematología. Lisboa 1963.

- 105 Kirkman, H. N., «Nature» 184, 1291, 1959.
- 106 Kirkman, H. N.; Brinson, G. A., y Pickard, B. M., IX Congreso Soc. Inter. Hematología. Lisboa 1963.
- 107 Kornberg, A., y Horecker, B. L., en *Methods in Enzymology*. Acad. Press. N. York 1955.
- 108 Kruatrachue, M. B. y varios, «Lancet» ii, 1183, 1962.
- 109 Larizza, P.; Brunetti, P.; Grignani, F., y Ventura, S., «Minerva Medica» 49, 3769, 1958.
- 110 Idem, íd., «Haematologica» 43, 205, 1958.
- 111 Larizza, P.; Grignani, F., y Brunetti, P., «Haematologica» 45, 1 y 129, 1960.
- 112 Larizza, P., «Acta Haematol.» 6, 19 octubre 1961.
- 113 Larizza, P.; Brunetti, P., y Grignani, F., «Lancet» 1, 601, 1962.
- 114 Larizza, P.; Grignani, P., y Brunetti, F. IX Congreso Soc. Hemat. Intern. Lisboa 1963.
- 115 Larizza, P., y Brunetti, F., «Excerpta med.» 19, 564, 1965.
- 116 Leeuw, W. K. M.; Shapiro, L., y Lowenstein, L., «Ann. Int. Med.».
- 117 Lenzerini, L., y Contu, L., «Blood», XVI, 1656, 1960.
- 118 Levy, H. R., «Biochem. Biophys. Res. Comm.» 6, 49, 1961.
- 119 Lisker, R.; Alvar Soria, Q. B. P., y Snigler, I., «Blood» XVIII, 491, 1961.
- 120 Loder, P. B., y Grudev, cit. en 20.
- 121 Lohr, G. W.; Waller, H. D., y Karges, O., «Klin. Wschr.» 35, 871, 1957.
- 122 Lohr, G. W., y Waller, H. D., «Klin. Wschr.» 36, 865, 1958.
- 123 Lohr, G. W.; Waller, H. D., y varios, «Klin. Wschr.» 36, 1008, 1958.
- 124 Lohr, G. W., y Waller, H. D., «Klin. Wschr.» 37, 833, 1959.
- 125 Lohr, G. W., y Wallerz, H. D., «Dtsch. med. Wschr.» 86, 27 y 89, 1961.
- 126 Luisada, L., «Medicine» 20, 229, 1941.
- 127 Mc Carty, O. R., cit. por Beutler en 20.
- 128 Manganelli, G., y Danielle, F., «Giornale di Clin. Med.» 45, 10, 937, 1964.
- 129 Mark, P. A.; Gross, R. T., y Hurwitz, R. E., «Nature» 183, 1266, 1959.
- 130 Marks, P. A., y Gross, R. T., «J. Clin. Invest.» 38, 2253, 1959.
- 131 Marks, P. A., y Gross, R. T., «Bull. N. Y. Acad. Sci.» 35, 433, 1959.
- 132 Marks, P. A.; Banks, J., y Gross, R. T., «Biochem. Biophys. Res. Comm.» 1, 199, 1959.
- 133 Marks, P. A.; Szeinberg, A., y Banks, J., «J. Biol. Chem.» 236, 10, 1961.
- 134 Marks, P. A.; Banks, J., y Gross, R. T., «Nature» 194, 454, 1962.
- 135 Marks, P. A., IX Congreso Soc. Intern. Hematolog. Lisboa 1963.
- 136 Marti, Schoepf y Gsell, «Brit. Med. J.» 1, 1476, 1965.
- 137 Michot, F., y Marti, H. R., «Klin. Wschr.» 20, 1028, 1964.
- 138 Idem, íd., «Schr. med. Wschr.» 43, 1450, 1965.
- 139 Mills, G. C., y Randall, H. P., «J. Biol. Chem.» 232, 589, 1958.
- 140 Mora Lara, R. J.; Rico Irlas, J., y colaboradores, «Med. Clínica» XXII, 6, 421, 1964.
- 141 Mora Lara, R. J.; Rico Irlas, J., y cols., «Rev. Diagn. Biol.» XIV, 1, 15, 1965.

- 142 Motulski, A. G.; Krant, J. M.; Thieme, T., y Musto, D. F., «Clinical Research» VII, 1, 89, 1959.
- 143 Marburger Symposium. Sobre las anemias hemol. enzimopánicas. «Klin. Wschr.» 5, 221, 1962.
- 144 Notario, A.; Nespoli, M., y Ricotti, V., «Haematologica» 46, 1041, 1961.
- 145 Nordoy, A.; Bremer, J.; Myhre, E., y Solheim, S., «Act. Med. Scand.» 172, 67, 1962.
- 146 Pedro Pons, A., y cols., *Tratado de Patología Médica*. Tomo V.
- 147 Panizon, F., y Vullo, C., «Haematologica» 47, 205, 1962.
- 148 Idem, Com. al IX Congreso de la Soc. Intern. de Hematología. Lisboa 1963.
- 149 Pearson, H. A., y Druyan, R., «J. Lab. Clin. Med.» 57, 343, 1961.
- 150 Pedro Pons, A., y Surinyach Oller, R., «Med. Clinica», V, 15, 1950.
- 151 Peláez Redondo, J.; Rico Irlles, J., y cols., IX Congr. Soc. Intern. de Hematología. Lisboa, 1963.
- 152 Pierspn, M., y Ducas, J., «Med. e Higiene», 68, 7, 1964.
- 153 Pinkas, J.; Dialectti, M., y Joshua, H., «Blood» 21, 4, 484, 1963.
- 154 Frankerd, T. A., «Brit. J. Hematol.» 7, 405, 1961.
- 155 Price Evans, D. A. «Med. e Higiene» 48, 5, 1963.
- 156 Porter, I. H., IX Congreso Soc. Intern. Hematología. Lisboa, 1963.
- 157 Ramot; Askhenazi, I.; Rimón, A.; Adam, A., y Sheba, C., «J. Clin. Invest.» 40, 611, 1961.
- 158 Ramot y cols., IX Congreso Soc. Internac. de Hematología. Lisboa, 1963.
- 159
- 160 Rico Irlles, J., y otros, «Med. Clin.» 41, 359, 1963.
- 161 Rico Irlles, J., «Rev. Clín. Esp.» 92, 77, 1964.
- 162 Richmond, H., «Scot. Med.» J.» 7, 381, 1962.
- 163 Richterich, R., *Klinische Chemie*: Akad. Verlagsgesellsch. Frankfurt a.M. 1965.
- 164 Robinson, M. A.; Loder, P. B.; Granchy, G. C., «J. Haematology» 7, 327, 1961.
- 165 Romero, E., «Folia Clin. Intern.» XV, 430, 1965.
- 166 Rubinstein, D.; Ottolenghi, P., y Denstedt, O. F., «Canada J. Bioch. Physiol.» 34, 222, 1956.
- 167 Sabine, J. C., y varios, «J. Haemat.» 9, 164, 1963.
- 168 Salvadio, E.; Pannachiuli, y Ticchianello, IX Congr. Soc. Internacion. de Hematolog. Lisboa, agosto 1963.
- 169 Sansone, G., y Segni, G., «Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.» 32, 456, 1956.
- 170 Sansone, G., «Minerva Medica» 48, 3315, 1957.
- 171 Sansone, G., y Segni, G., «Lancet» 2, 295, 1957.
- 172 Sansone, G., y Segni, G., «Boll. Soc. Ital. Sper.» 34, 327, 1958.
- 173 Sansone, G.; Borrene, C., y Borrei, S., «Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.» 34, 1561, 1958.
- 174 Sansone, G.; Piga, A. M., y Segni, G., «Brit. J. Haemat.», ii, 511, 1965.
- 175 Sansone, G., «Brit. J. Haemat.», ii, 524, 1965.
- 176 Santallana, M., «Press med.» 54, 1133, 1954.
- 177 Sartori, E., y Panzon, E., «Studi Sassaressi» 35, 363, 1957.
- 178 Sartori, E., y varios, «Haematologica» 46, 581, 1961.
- 179 Siniscalco, M. Bernini y varios, «Nature» 190, 1179, 1961.

- 180 Sonnet, J., y Michaux, J. L., «Nature» 188, 504, 1960.
181 Surinyach, R., «Med. Clin.» 16, 158, 1951.
182 Idem. En *Patología y Clínica Médicas*, de A. Pedro Pons, T. V., 152, 1958.
183 Schilling, R., Ver: *Dtsch. Ges. inn. Med.* Munich, 1952.
184 Schrier, S. L., y varios, «J. Lab. Clin. Med.» 52, 109, 117, 1958.
185 Schrier, S. L., «J. Clin. Invest.» 42, 756, 1963.
186 Shafer, A. W., «Blood» 26, 82, 1965.
187 Smith, S., «Tr. Roy. Soc. Med. Hyg.» 37, 155, 1943.
188 Stamatoyanopoulos y varios, «Lancet» ii, 932, 1964.
189 Stanley, L., y varios, «J. Lab. Clin. Med.» 54, 232, 1959.
190 Sutton, R. N. P., «Lancet» 550, 1966.
191 Swantz, H. E., y Bayliss, M., «Wor. Med.» 7, 104, 1945.
192 Stewart, J. S. S., «Lancet» ii, 1269, 1962.
193 Swarup, S., y varios, «Blood» XX, 382, 1962.
194 Swierczewski, E.; Gibelin, C., y Halpern, M. B., «Press med.» 73, 2386, 1965.
195 Szeinberg y cols., «Blood» 12, 603, 1957.
196 Szeinberg, A.; Sheba, C., y Adam, A., «Nature» 181, 1256, 1958.
197 Szeinberg, A., y varios, «Act. Gen. Med. Roma.» 8.º suplemento, 151, 1959.
198 Szeinberg, A.; Sheba, C., y Adam, A., IX Congreso Soc. Intern. Hematología. Lisboa, 1963.
199 Talel, M.; Loiselet, J., y Glave, F., «Press med.» 47, 2799, 1964.
200 Tarlow, A. R., y Kellermeier, R. W., «J. Lab. Clin. Med.» 58, 204, 1961.
201 Tarlow, A. R., y varios, «Arch. Int. Med.» 109, 209, 1962.
202 Tonz, O., y Betke, K., «Klin. Wschr.» 40, 649, 1962.
203 Turchetti, A., «Riform. med.» 62, 325, 1948.
204 Tulpule, P. G., «Nature» 181, 1804, 1958.
205 Virgil, F., Fairbanks, E., y Beutler, E., «Blood» 20, 591, 1962.
206 Verger, P.; Bentegat, J.; Moulinier, J., y Battin, J., «Jour. Med. Bourdeaux» 138, 12, 1599, 1961.
207 De Vries, Szeinberg y otros, IV Congreso Intern. Soc. Hematología. Lisboa, 1963.
208 Wallera, H. D.; Lohr, G. H., y Tabatabai, M., «Klin. Wschr.» 35, 1022, 1957.
209 Waller, G. D., y varios, «Klin. Wschr.» 13, 613, 1964.
210 Wassermann, E., y Chappman, R., «J.A.M.A.» 147, 1075, 1951.
211 Watson, «Bull. N. Y. Ac. Med.» 30, 2, 1954.
212 Weatherall, D. J., «Lancet» ii, 835, 1960.
213 Weed, R. I.
214 Weruze, H., y Woch, W., «Klin. Wschr.» 43, 451, 1965.
215 Woessner, S., «Rev. Soc. Esp. Hematol. y Hemoterapia» iii, 1.º, 2, 1963.
216 Wong Hock Boon, «Lancet» 882, 1966.
217 Zannos, Mariolea y Kattamis, C., «Blood» 18, 34, 1961.
218 Zannos, Mariolea, Katamis y Paidovcis, «Brit. J. Hemat.» 8, 258, 1962.
219 Zinkha, W. H., Lenhard, R. E., y Childs, E., «Bull. J. Hopkins Hospital» 102, 169, 1958.

... 1960

... 1961

... A. P. ... 1962

... 1963

... 1964

... 1965

... 1966

... 1967

... 1968

... 1969

... 1970

... 1971

... 1972

... 1973

... 1974

... 1975

... 1976

... 1977

... 1978

... 1979

... 1980

... 1981

... 1982

... 1983

... 1984

... 1985

... 1986

... 1987

... 1988

... 1989

... 1990

... 1991

... 1992

... 1993

... 1994

... 1995

... 1996

... 1997

... 1998

... 1999

... 2000

... 2001

... 2002

... 2003

... 2004

... 2005

... 2006

... 2007

... 2008

... 2009

... 2010

... 2011

... 2012

... 2013

... 2014

... 2015

... 2016

... 2017

... 2018

... 2019

... 2020

INFECCIONES POR VIRUS RESPIRATORIO SINCITAL
EN UNA COLECTIVIDAD INFANTIL

por el Doctor Antonio Rodríguez Torres

INFECCIONES POR VIRUS RESPIRATORIO SINCIETIAL
EN UNA COLECTIVIDAD INFANTIL

por el Doctor Antonio Rodríguez Torres

INTRODUCCION

Dividimos nuestro estudio en tres partes, que constituyen desde el punto de vista epidemiológico tres trabajos distintos:

1. *Infecciones por virus respiratorio sincitial en una colectividad infantil*

Se describen 47 infecciones por virus respiratorio sincitial ocurridas en dicha comunidad. Se realiza el estudio clínico y epidemiológico. Como investigaciones adicionales se realizó en este grupo el estudio comparado del valor de la RFC' con 2 y 4 U.A., el estudio de reinfecciones por virus RS y de infecciones mixtas por virus RS y adenovirus.

1.1. En la misma colectividad se estudia un brote epidémico, en el curso del cual se aislaron dos cepas de virus RS.

2. *Infecciones por virus respiratorio sincitial en enfermos hospitalizados*

Se describe el Servicio de Diagnóstico en colaboración con la Cátedra de Pediatría del Hospital Clínico. Se presentan los primeros casos descritos entre enfermos hospitalizados.

3. *Presencia de anticuerpos entre los diferentes grupos de edad*

Resultados obtenidos en sueros de personas normales.

DESCRIPCION DE LA COLECTIVIDAD INFANTIL

La encuesta ha sido realizada en el Instituto de Puericultura de la Casa Provincial de Maternidad de Barcelona. Dicha Institución cuenta con 1.000 camas, cuyo coeficiente de utilización es del 90-95 por 100. Los niños acogidos nacen generalmente en el Centro, y sólo menos de un 5 por 100 de los mismos ingresan posteriormente, en general niños abandonados menores de un mes de edad.

En el Instituto de Puericultura los niños permanecen hasta los 5-6 años, salvo que sean reclamados por sus padres o sean adoptados. Se distribuyen de acuerdo con su edad en diversas salas, tal como se refleja en la figura 1. En los servicios obstétricos de la Casa Provincial de Maternidad se asisten un promedio de 5.000 partos anuales. Los recién nacidos que son ingresados en el Instituto de Puericultura, benéficamente o por abandono materno, son trasladados a la semana de su nacimiento a la Sala I del Pabellón de Lactancia, desde donde pasan a las salas II, III o IV, hasta alcanzar el año de edad. Entre 1 y 2 años ocupan las salas V a IX. Cada una de estas salas aloja de 30 a 35 niños. A los 2 años de edad las niñas son trasladadas a los pabellones denominados Destetes, y los niños, a las salas llamadas Cambó, donde ocupan dormitorios para 8 niños. Hacia los 3 años y medio pasan a las salas Ave María, de donde, tras cumplir los 5 años, se trasladan a los Hogares para edad escolar y adolescencia de la Diputación Provincial. El tiempo que permanecen los niños en cada una de las salas es muy variable, de unos meses en las salas I, II, III y IV, y de un año o más en las restantes, puesto que a partir del año de edad no se les traslada ya con tanta frecuencia.

Los niños que ingresan en el Instituto de Puericultura posteriormente a su nacimiento, son alojados en un pabellón especial (Boxes de entrada y Lazaretos) durante un mínimo de dos meses antes de incorporarse al régimen general de la casa.

El nivel social de las madres de los niños ingresados es, en

DISTRIBUCION SEGUN LA EDAD DE LOS NIÑOS ALBERGADOS EN EL INSTITUTO DE PUERICULTURA (1965-67)

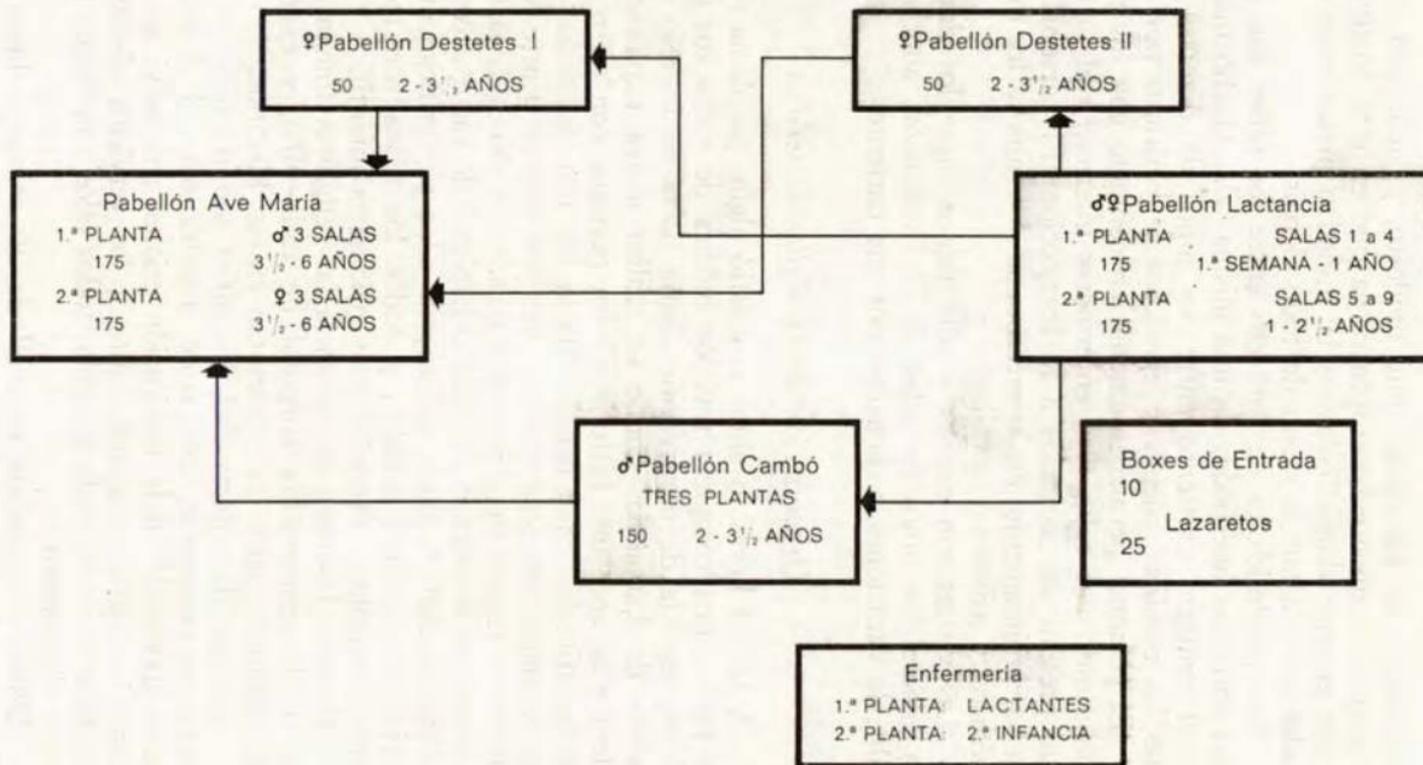


FIGURA 1 Fundación Juan March

la mayoría de los casos, muy modesto, y su origen geográfico, extraordinariamente heterogéneo, ya que en esta Institución dan a luz mujeres domiciliadas en la ciudad o procedentes de localidades muy distantes y aun de todo el país.

Las posibilidades de contacto entre los niños son muy íntimas entre los huéspedes de una misma sala. Mucho más relativo es el contacto existente entre los niños de diversas salas, ya que las comidas, juegos y ejercicios se verifican por separado.

El personal permanentemente en contacto con los niños está constituido por religiosas, enfermeras internas y algunas madres que prestan sus servicios a la Institución. El personal exterior, menos íntimamente en contacto con los niños, lo forman los médicos y asistentes sociales.

Las visitas son escasas y sólo tienen lugar los domingos, y en general los niños no salen de la Institución, aunque pueden salir de vacaciones reclamados por sus parientes.

Organización de la vigilancia médica

A las 24 horas, o antes si existió algún problema obstétrico, se realiza una completa revisión médica de todos los recién nacidos, seguida de observación diaria hasta su ingreso en el pabellón de Lactancia, donde se realiza nueva exploración completa y se abre una historia clínica personal con un resumen de su historia de recién nacido. Hasta los 7 meses todos los niños son visitados médicamente una vez por semana. Entre los 7 y 12 meses se regula su alimentación cada 15 días. A partir de los 3 meses se instaura el calendario habitual de vacunaciones (triple, polio, viruela). A partir del año de edad se verifican únicamente revisiones médicas anuales, y todos los niños son reconocidos por el neurólogo, oftalmólogo y psiquiatra infantil.

Durante la época de lactancia las religiosas toman dos veces al día la temperatura corporal de cada niño, y examinan las deposiciones, datos que se anotan en sus historias.

En caso de enfermedad, los niños son tratados en la propia sala si el proceso es leve, o en la enfermería, si el proceso presenta gravedad. En la Institución existen tres servicios de enfermería: de recién nacidos, junto a los servicios obstétricos; de lactantes y de segunda infancia, todos ellos con boxes individuales y aislamiento.

Existe un pabellón especial de 20 camas dedicado a niños subnormales.

MATERIAL Y METODOS

TECNICA DE LA ENCUESTA

Plan general. Se escogió una muestra de, aproximadamente, un 10 por 100 de los niños ingresados en el Instituto, procurando incluir en la encuesta, sobre todo, a niños menores de 2 años, lo que nos permitiría seguirles durante más tiempo. Estos niños fueron estudiados mediante:

1. La obtención de un suero tomado sistemáticamente al comienzo de cada invierno.

2. Si en el curso del invierno los niños de la encuesta sufrían un proceso respiratorio agudo, se tomaba un suero tardío de la enfermedad entre los 15 y 30 días de la misma, considerándose el suero sistemático anterior como suero precoz. Si el suero sistemático databa de más de un mes del comienzo de la enfermedad, aun sin historia respiratoria durante ese tiempo, se tomaban dos sueros de este proceso, un suero precoz durante los 3 primeros días y un suero tardío entre el 15.º y el 30.º día.

3. Se tomaba también sistemáticamente un suero a los niños estudiados, durante la primavera siguiente.

4. En el curso de la investigación se observaron casos de enfermedad respiratoria aguda entre niños que no habían sido incluidos en la encuesta, a los cuales se tomó un suero precoz, incorporándolos desde entonces a la encuesta como los restantes.

Número de niños estudiados. Formaron parte de la encuesta 144 niños, entre los que 104 fueron objeto de extracciones suplementarias con ocasión de la presentación de 145 afecciones clínicas respiratorias o febriles.

Edad de los niños. En el momento de ser incluidos en la encuesta, los niños tenían las edades que se resumen en la *tabla 1*.

TABLA 1
NIÑOS ESTUDIADOS

<i>Edades</i>	N.º	%
0 - 6 meses	29	20,13
0 - 12 »	32	22,22
1 - 2 años	65	45,13
2 - 3 »	15	10,41
3 - 4 »	2	1,38
4 - 5 »	1	0,69
Total	144	

Sin embargo, tiene mayor interés conocer la edad que tenían estos niños en el momento de la obtención de los distintos sueros. La distribución por edades de los 518 sueros estudiados nos la proporciona la *tabla 2*:

TABLA 2
SUEROS ESTUDIADOS

<i>Edades</i>	N.º	%
0 - 6 meses	42	8,10
6 - 12 »	68	13,12
1 - 2 años	226	43,62
2 - 3 »	137	26,44
3 - 4 »	35	6,75
4 - 5 »	10	1,93
Total	518	

REACCION DE FIJACION DE COMPLEMENTO

Sueros a ensayar. Las muestras de sangre, recogidas asépticamente, se remitieron al Laboratorio de Virología de la II Cátedra de Microbiología e Higiene, donde los sueros se repartieron en pequeños volúmenes y se conservaron congelados a -20° C.

Antígeno. Para la preparación del antígeno fijador del complemento se utilizó la línea celular KB, cultivada en medio de hidrolizado de lactoalbúmina al 0,5 por 100 en solución de Hanks con 10 por 100 de suero de ternera. Para la supervivencia sustituimos el suero de ternera por un 30 por 100 de líquido amniótico bovino.

Utilizamos como inóculo la cepa Long de virus respiratorio sincitial, que nos fue amablemente proporcionada por el profesor Sohier (Laboratorio de Bacteriología, Virología e Inmunología, Facultad de Medicina, Lyon).

El antígeno se obtiene por recogida de células y medio cuando la degeneración celular es completa (6-9 días), y se conserva a -50° C. en congelador REVCO. Inmediatamente antes de su utilización se centrifuga durante 20 minutos a 3.000 r.p.m. para eliminar los restos celulares.

La titulación del antígeno se realiza por el método de Boerner-Luckens, empleándose 2 UA en la reacción. En algunos casos se utilizaron 4 UA para intentar detectar anticuerpos no demostrados con 2 UA.

Un antígeno normal de células KB se preparó en las mismas condiciones que el antígeno de virus RS.

Sueros de referencia. Sueros humanos de sujetos afectos de infecciones por virus respiratorio sincitial comprobadas por aislamiento del virus o por demostración de aumento significativo del título de anticuerpos. Los primeros sueros de referencia utilizados nos fueron proporcionados por el profesor Sohier; a lo largo de la investigación incorporamos como sueros de referencia los positivos hallados repetidamente comprobados.

Técnica utilizada. Micrométodo en tubos descrito por Sohier y colaboradores en 1956 (37) de tipo Kolmer con fijación en frío. Se admite la positividad cuando la hemólisis es nula (++++) o de un 20 por 100 como máximo (+++).

Las diluciones del suero ensayadas fueron 1/8, 1/16, 1/32, etcétera. Cuando en un par de sueros se obtuvo un aumento de $< 1/8$ a 1/16 se repitió la reacción a la dilución 1/4 para verificar el aumento de 4 veces el título.

Los diversos sueros correspondientes a un mismo proceso clínico fueron siempre estudiados en la misma sesión de laboratorio. En cada reacción se incluyó un suero de referencia positivo y un suero negativo conocido, y se realizó una prueba paralela con el antígeno normal frente a los sueros a ensayar.

La exactitud de los títulos hallados en nuestro laboratorio fue verificada por el ensayo de una muestra de los mismos en el Departamento de Serología del profesor Sohier.

Interpretación de los resultados. El diagnóstico de infección por virus respiratorio sincitial se estableció en función del hallazgo de un aumento significativo (≥ 4 veces) del título de anticuerpos en dos sueros sucesivos, o de un título $\geq 64^*$ en un solo suero (35).

* El título se expresará en adelante como la inversa de la dilución correspondiente.

RESULTADOS

RESULTADOS GLOBALES

1. Mediante la RFC utilizando 2 UA se demostraron 72 resultados positivos (≥ 8), que representaban el 13,88 por 100 de los 518 sueros estudiados (*tabla 3*).

TABLA 3

RESULTADOS DE LA RFC CON 2 UA FRENTE AL VIRUS RS EN 518 SUEROS

<u>Títulos</u>	<u>N.º de sueros</u>	<u>%</u>
< 8	446	86,10
8	20	3,86
16	20	3,86
32	15	2,89
64	8	1,54
124	8	1,54
256	1	0,19
Total	518	

En 53 de los 144 niños estudiados (36,80 %) se obtuvieron resultados positivos (≥ 8) en uno o más sueros, demostrativos de infección presente o pasada por virus RS.

En 40 niños fue posible establecer el diagnóstico serológico de 41 infecciones actuales por virus RS, habiéndose demostrado dos infecciones sucesivas en uno de los niños estudiados. El diagnóstico se basó en el hallazgo de aumentos significativos en el título en 36 casos y en la existencia de un título ≥ 64 en un primer suero tardío en 5 casos.

2. La reacción de FC' se repitió utilizando 4 UA en los pares de sueros correspondientes a 28 niños que, siendo su serología negativa con 2 UA, enfermaron durante alguna de las epidemias observadas. Lo mismo se hizo con los sueros sistemáticos de otros 29 niños que, sin sufrir enfermedad aparente, estaban alojados en las mismas salas donde se desarrollaron los brotes epidémicos, y en los que la RFC' con 2 UA había resultado también negativa.

Entre estos sueros, correspondientes a 57 niños (tabla 4), se demostraron 15 nuevas positivities. En conjunto, pues, la infección presente o pasada por virus RS se demostró en 68 niños (47,22 %).

TABLA 4

POSITIVIDADES Y DIAGNOSTICOS SEROLOGICOS OBTENIDOS MEDIANTE LA RFC' CON 2 Y 4 UA

	N.º de niños estudiados	N.º de niños con títulos positivos (≥ 8)	N.º de diagnósticos serológicos
RFC' con 2 UA	144	53 (36,80 %)	41
Repetición de la RFC' con 4 UA	57	15	6
Total	144	68 (47,22 %)	47

Gracias al empleo de las 4 UA en la RFC' se consiguió el diagnóstico de otras seis infecciones por virus RS, mediante el hallazgo de aumentos significativos del título. En conjunto, pues, se obtuvieron 47 diagnósticos de infección actual por virus RS.

3. De los 47 diagnósticos, 36 corresponden a una enfermedad clínica evidente, en tanto que 11 traducen infecciones inaparentes detectadas por el hallazgo de un aumento significativo en el suero tomado sistemáticamente en primavera.

Teniendo en cuenta que durante nuestra encuesta se han estudiado 145 enfermedades respiratorias agudas, el diagnóstico de 36 infecciones clínicas por virus RS representa el 24,82 por 100 de los procesos respiratorios registrados en la colectividad.

Distribución según la edad. En la *tabla 8* se expone la edad de los niños de la encuesta en el momento de sufrir la infección por virus RS. Se observa una marcada preferencia por el grupo de 1 a 2 años de edad que acapara el 68,08 por 100 de todas las infecciones demostradas, seguido por el grupo de 2 a 3 años de edad, en el que se produjeron el 23,40 por 100. Por debajo del año de edad sólo se han diagnosticado 3 casos de infección por virus RS.

Estudio epidemiológico. 1. Durante el mes de enero de 1966 se presentó en la colectividad un pequeño brote epidémico de enfermedad respiratoria que se caracterizó clínicamente por un cuadro muy uniforme de bronquitis de intensidad moderada, comienzo progresivo, fiebre máxima de 39° C. y una duración de 5 a 10 días. En ningún caso fue necesaria la hospitalización.

Todos los casos se presentaron en las salas IV, V, VI, VII, VIII y IX. La primera se encuentra en la planta inferior del pabellón de Lactancia y las restantes en la planta superior del mismo pabellón. Entre los 210 niños alojados en las salas citadas sufrieron el proceso epidémico unos 45 niños, de los cuales, 13 fueron estudiados serológicamente. Entre los que no presentaron un proceso evidente, 29 estaban incluidos en nuestra encuesta y pudieron estudiarse mediante las extracciones sistemáticas (*tabla 5*).

Se obtuvo el diagnóstico serológico de infección por virus RS en 9 niños cuyas edades oscilaban entre los 9 y 34 meses de edad. De 8 a 25 días antes del comienzo de la enfermedad durante los cuales no presentaron sintomatología alguna se había obtenido un suero de estos niños. La reacción de FC' resultó negativa para el virus RS en dicho suero. En 8 casos un suero tardío tomado a los 28 días del comienzo de la enfermedad demostró un aumento significativo frente al virus RS; en otro caso el aumento significativo se consiguió en un suero del 54.º día. Dos casos presentaron simultáneamente un aumento significativo del título para adenovirus (< 4 a 16 y < 8 a 32).

Entre los 29 niños alojados en las salas en que se desarrolló el brote epidémico perteneciente a nuestra encuesta se diagnos-

TABLA 5

ESTUDIO SEROLOGICO DEL BROTE EPIDEMICO DE INFECCIONES POR VIRUS RS OCURRIDO EN ENERO DE 1966 EN LAS SALAS IV, V, VI, VII, VIII Y IX

1. Resultado de la RFC' con 2 UA en los sueros de 13 enfermos y 29 niños, residentes en las mismas salas, que no presentaron sintomatología evidente.

ENFERMOS			SIN ENFERMEDAD APARENTE *				
Diagnóstico serológico (9)	Sin diagnóstico serológico (4)		Total	Diagnóstico serológico (8)	Sin diagnóstico serológico (21)		Total
AS	TP	TN		AS	TP	TN	
9	0	4	13	8	3	18	29

2. Resultados de la RFC' con 4 UA en los sueros de los 4 enfermos y 21 niños residentes en las mismas salas cuya serología resultó negativa con 2 UA.

ENFERMOS			SIN ENFERMEDAD APARENTE *				
Diagnóstico serológico (0)	Sin diagnóstico serológico (4)		Total	Diagnóstico serológico (3)	Sin diagnóstico serológico (18)		Total
AS	TP	TN		AS	TP	TN	
0	0	4	4	3	4	14	21

* Los sueros estudiados son los tomados sistemáticamente al comienzo del invierno y en primavera.

AS: Aumento significativo del título.

TS: Título significativo en un primer suero tardío.

TP: Títulos positivos en uno o ambos sueros.

TN: Títulos negativos en ambos sueros.

ticaron 8 infecciones inaparentes (tabla 6). En otros tres niños se detectaron títulos no significativos en el segundo suero.

TABLA 6

ESTUDIO DEL BROTE EPIDEMICO DE INFECCIONES
POR VIRUS RS OCURRIDO EN FEBRERO DE 1966
EN LA SALA LAZARETOS

1. Resultados de la RFC' con 2 UA en los sueros de 9 enfermos.

Diagnóstico serológico (6)		Sin diagnóstico serológico (3)		Total
AS	TS	TP	TN	
1	5	0	3	9

2. Resultados de la RFC' con 4 UA en los sueros de los 3 enfermos que resultaron negativos con 2 UA.

Diagnóstico serológico (0)		Sin diagnóstico serológico (3)		Total
AS	TS	TP	TN	
0	0	2	1	3

AS: Aumento significativo del título.

TS: Título significativo en un primer suero tardío.

TP: Títulos positivos en uno o ambos sueros.

TN: Títulos negativos en ambos sueros.

Los 25 pares de sueros (de los 4 enfermos y 21 residentes que no enfermaron) que no proporcionaron un diagnóstico serológico con 2 UA fueron ensayados de nuevo mediante la utilización de 4 UA. La reacción de FC' en estas condiciones permitió detectar otras tres infecciones inaparentes (títulos < 4 a 16).

2. En los primeros días de febrero, sólo unos 15 días des-

pués de la fecha de comienzo del último de los casos de la epidemia anterior, se presentó un nuevo brote epidémico que afectó a los niños ingresados en la sala Lazaretos. A pesar de la proximidad cronológica parece lógico pensar que se trata de un brote independiente del anterior por consideraciones epidemiológicas. En efecto, la sala Lazaretos se encuentra muy alejada del pabellón de Lactancia y las posibilidades de contacto entre los niños son prácticamente nulas; el origen de los niños de esta sala es completamente distinto, ya que se albergan allí los ingresados con posterioridad a su nacimiento, procedentes del exterior, hasta su incorporación al régimen general de la casa; y, finalmente, el cuadro clínico presentado por los enfermos fue muy distinto y mucho más grave que el anteriormente descrito.

Entre el 4 y el 12 de febrero de 1966 enfermaron 11 de los niños de la sala Lazaretos, de los cuales se estudiaron serológicamente 9, mediante la obtención de un suero entre el 6.º y el 8.º día de enfermedad y un segundo suero tardío en 8 de ellos hacia los 40 días del comienzo del proceso. Todos los enfermos presentaron un cuadro grave, que obligó en general a su hospitalización, de comienzo brusco con sintomatología gripal que evolucionó rápidamente hacia la bronquiolitis o neumonía. La fiebre fue constante y muy elevada (40-41° C.), durando el cuadro más de 10 días. La edad de los niños afectados estaba comprendida entre 30 meses y 4 años.

La RFC' practicada con 2 UA en los sueros de estos enfermos demostró en 5 casos la etiología del proceso por virus RS (tabla 6), mediante el hallazgo de títulos ≥ 64 y la demostración de un descenso de más de 4 veces el título en 4 de ellos. Un sexto caso se diagnosticó por aumento en el segundo suero tardío cuando había sido negativo el primer suero tardío. En los tres casos restantes, clínica y epidemiológicamente similares, la RFC' no permitió el diagnóstico, si bien con 4 UA se detectaron títulos positivos aunque no significativos en dos de ellos.

En esta sala no había niños encuestados, por lo que no se estudiaron posibles procesos inaparentes.

3. Durante noviembre de 1966 el estudio serológico de 28 infecciones respiratorias no demostró en ningún caso la etiología por virus RS. La presencia de este virus en la colectividad se hace notar de nuevo en el mes de diciembre al demostrarse que tres de las 23 infecciones estudiadas en dicho mes fueron producidas por el mismo. Los tres casos se localizaron en la sala VIII, y parecen el antecedente del brote que durante el

mes siguiente se desarrolló en otras salas próximas. Los tres casos presentaron un cuadro clínico diferente; uno presentó rinofaringitis leve, otro sufrió faringitis, que evolucionó hacia una bronconeumonía, y el tercero presentó un cuadro de bronquitis aguda febril. Este último fue una reinfección comprobada por virus RS, puesto que el mismo niño padeció otra bronquitis de la misma etiología durante el brote epidémico de enero de 1966.

El 10 de enero un niño de 5 meses de la sala II hubo de ser ingresado en la enfermería con un serio cuadro bronconeumónico por RS (caso 11 b), y a partir del 12 del mismo mes se desarrolló un brote epidémico que afectó a la mayoría de los niños alojados en las salas V, VI y VII, situadas en la primera planta del pabellón de Lactancia. Entre el 12 y el 31 de enero enfermaron 79 de los 110 niños de estas salas (71,8 %).

Se estudiaron serológicamente (*tabla 7*) 35 enfermos de este brote epidémico; 20 pertenecientes a nuestra encuesta y 15 que fueron incorporados a ella tras la obtención del suero precoz. Otros 8 niños residentes en estas salas e incluidos en la encuesta no presentaron enfermedad aparente y fueron estudiados mediante la obtención de sueros sistemáticamente al comienzo del invierno y en primavera (mayo-junio).

El cuadro clínico de todos los niños afectados fue muy similar, presentándose en todos ellos rinofaringitis con fiebre moderada (37,5° a 39° C.), de dos a seis días de duración. En 8 de los casos estudiados existió además participación bronquial ligera y en tres se inició un cuadro bronconeumónico leve con escasa repercusión radiológica. Otros tres niños presentaron otitis supurada que se prolongó durante varias semanas. En ningún caso fue necesaria la hospitalización. La edad de los niños afectados oscilaba entre 18 y 28 meses.

Entre los 35 niños enfermos estudiados serológicamente se obtuvo, mediante la RFC' con 2 UA (*tabla 7*) el diagnóstico de infección por virus RS en 14 (40 %), y títulos positivos no significativos en otros 3. De los 8 niños estudiados mediante las extracciones sistemáticas, que no sufrieron enfermedad evidente, cuatro mostraron en el suero de mayo-junio títulos positivos, pero no significativos. En ningún caso se obtuvieron títulos o aumentos significativos para ninguno de los otros antígenos ensayados.

Los 21 pares de sueros de los enfermos que no proporcionaron un diagnóstico con 2 UA fueron ensayados de nuevo con 4 UA. La RFC' en estas condiciones permitió el hallazgo

TABLA 7

ESTUDIO SEROLOGICO DEL BROTE EPIDEMICO DE INFECCIONES POR VIRUS RS OCURRIDO EN ENERO DE 1967 EN LAS SALAS V, VI Y VII

1. RFC' con 2 UA en los sueros de 35 enfermos y 8 niños residentes en las mismas salas que no presentaron sintomatología evidente.

ENFERMOS			SIN ENFERMEDAD APARENTE *				
Diagnóstico serológico (14)	Sin diagnóstico serológico (0)		Total	Diagnóstico serológico (0)	Sin diagnóstico serológico (8)		Total
AS	TP	TN		AS	TP	TN	
14	3	18	35	0	4	4	8

2. RFC' con 4 UA en los sueros de los 21 enfermos y 8 niños residentes en las mismas salas cuya serología resultó negativa con 2 UA.

ENFERMOS			SIN ENFERMEDAD APARENTE *				
Diagnóstico serológico (3)	Sin diagnóstico serológico (18)		Total	Diagnóstico serológico (0)	Sin diagnóstico serológico (8)		Total
AS	TP	TN		AS	TP	TN	
3	8	10	21	0	5	3	8

* Los sueros estudiados son los tomados sistemáticamente al comienzo del invierno y en primavera.

AS: Aumento significativo del título.

TS: Título significativo en un primer suero tardío.

TP: Títulos positivos en uno o ambos sueros.

TN: Títulos negativos en ambos sueros.

de otros tres aumentos significativos, elevándose a 8 el número de pares de sueros que presentaron alguna positividad.

Los 8 pares de sueros de niños que no padecieron la enfermedad fueron también ensayados mediante la RFC' con 4 UA, no modificándose prácticamente los resultados obtenidos con 2 UA.

Estudio clínico. Los cuadros clínicos observados fueron diversos. Se consideraron infecciones del tracto respiratorio superior cuando se presentó rinitis y faringitis con o sin tos. El diagnóstico de bronquitis se estableció ante la auscultación de roncus y sibilancias y el de bronquiolitis ante la observación de dificultad respiratoria, retracción, disnea y cianosis. El síndrome neumónico indicado por la presencia de estertores crepitantes fue comprobado en todos los casos por examen radiológico. Ninguno de los casos estudiados se presentó en forma de laringotraqueitis (croup).

Veinticinco casos (51,7 %) se presentaron con afectación del tracto respiratorio inferior (tabla 8). En 8 de ellos (17,01 %) la afectación del tracto superior acompañó, y generalmente precedió, a la del tracto inferior. 11 casos se presentaron con la única participación de las vías aéreas superiores, en todos los casos con rinofaringitis. Se detectaron 11 infecciones inaparentes.

TABLA 8

CUADRO CLINICO Y DISTRIBUCION SEGUN LA EDAD
DE 47 CASOS DE INFECCION POR VIRUS RS
DEMOSTRADOS SEROLOGICAMENTE

Edad	TRS	TRI	TRS + TRI	PI	Total
0-6 m.		1			1 (2,13 %)
6-12 m.		2			2 (4,26 %)
1-2 a.	11	6	5	10	32 (68,08 %)
2-3 a.		7	3	1	11 (23,40 %)
3-4 a.		1			1 (2,13 %)
4-5 a.					
Total	11 (23,40 %)	17 (34,68 %)	8 (17,01 %)	11 (23,40 %)	47

TRS: Afectación del tracto respiratorio inferior.

TRI: Afectación del tracto respiratorio inferior.

PI: Proceso inaparente.

El desglose de los casos con participación del tracto respiratorio inferior (*tabla 9*) permite apreciar que la bronquitis fue el síndrome más frecuente (64 % de estos procesos), seguido por la neumonía (24 %) y bronquiolitis (12 %).

TABLA 9

CLINICA DE 25 INFECCIONES DEL TRACTO RESPIRATORIO INFERIOR PRODUCIDAS POR VIRUS RS

Edad	Bronquitis	Bronquiolitis	Neumonía	Total
0-6 m.			1	1 (4 %)
6-12 m.	2			2 (8 %)
1-2 a.	6 (4)		(1)	11 (44 %)
2-3 a.	2 (2)	3	2 (1)	10 (40 %)
3-4 a.			1	1 (4 %)
4-5 a.				
Total	10 (6) 16 (64,0 %)	3 3 (12,0 %)	4 (2) 6 (24,0 %)	25

() Con participación del tracto respiratorio superior.

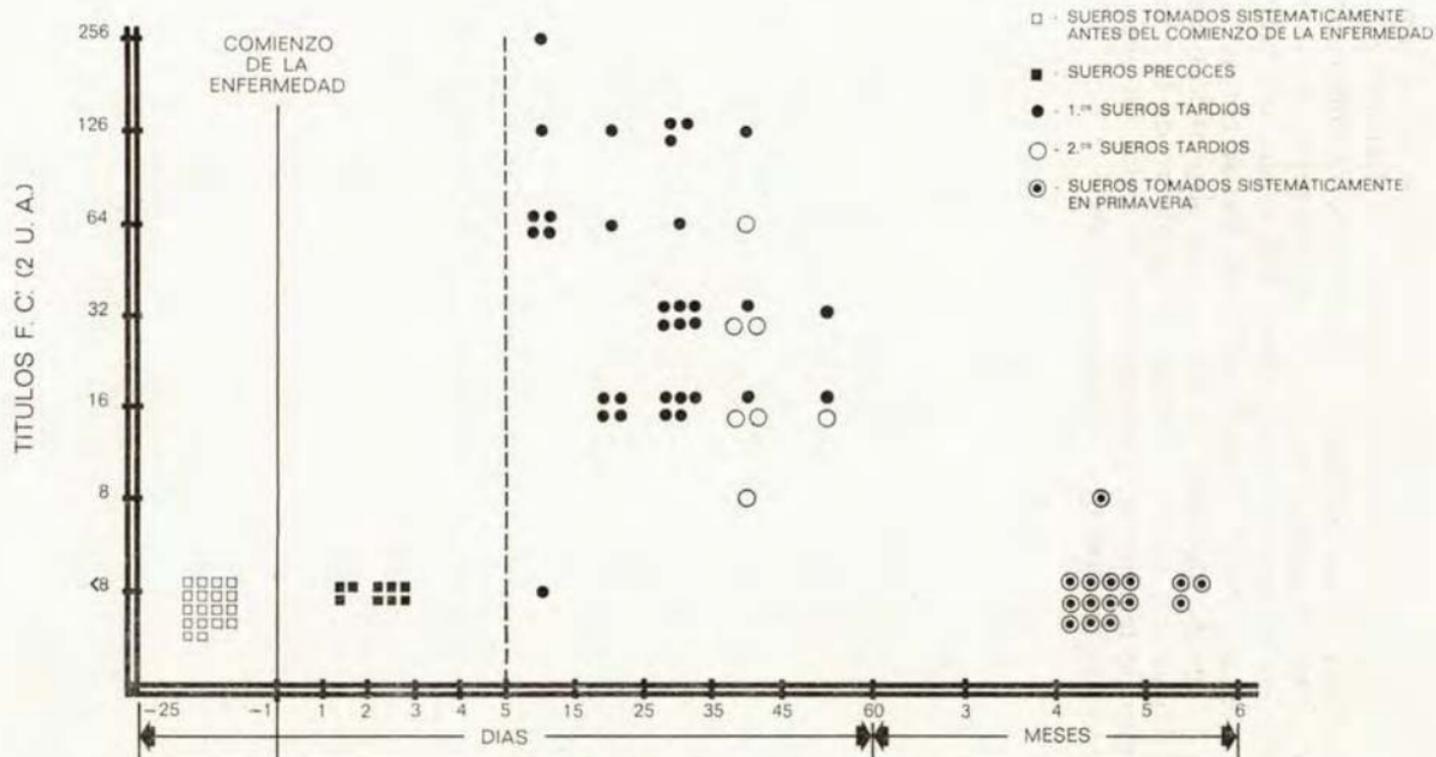
La distribución por edades de los cuadros clínicos demuestra la presencia de bronquiolitis únicamente en el grupo de 2-3 años y en muy escasa proporción (6,3 % de los 47 casos). La neumonía fue algo más frecuente, presentándose algún caso en todos los grupos de edad, hasta los 4 años, excepto en el grupo de 6 a 12 meses; su incidencia representa el 12,6 por 100 de los 47 casos. En conjunto una severa enfermedad del aparato respiratorio inferior (bronquiolitis + neumonía) se observó en 9 casos (19,9 %).

Finalmente señalemos la aparición de otitis supurada en dos de los casos diagnosticados, que se prolongó varias semanas.

Evolución de los anticuerpos. En la figura 2 se han representado los títulos obtenidos en diferentes sueros correspondientes a los 33 casos de infección por RS diagnosticados mediante la RFC' con 2 UA.

En todos los casos los sueros tomados antes del comienzo de la enfermedad, y los sueros precoces anteriores al 4.º día

EVOLUCION DE LOS ANTICUERPOS F. C. EN 33 CASOS DE INFECCION POR VIRUS R. S.



Fundación Juan March
FIGURA 2

han sido negativos. Hacia el 8.º día los títulos han sido altos (≥ 64), salvo en un caso. Entre el 15.º y el 35.º día, los sueros tardíos que han permitido un diagnóstico han mostrado títulos 16 y 32 en 15 casos, y sólo títulos superiores en 6. Entre los 35 y 45 días se observa aún un título 128 y otro 64, pero los 7 restantes son ≤ 32 . Entre los 45 y 60 días se obtuvo un título 32 y 2 de 16. Mediante 15 extracciones sistemáticas efectuadas en primavera, a los 4 ó 5 meses del comienzo de la enfermedad se puso de manifiesto la desaparición de todos los anticuerpos, excepto en un caso que conserva un título 8.

DISCUSION

El virus RS fue aislado por primera vez en 1956 (27) de chimpancés afectos de coriza y de un trabajador de laboratorio (virus CCA). Se le denominó virus respiratorio sincitial a raíz de su hallazgo en casos esporádicos de enfermedad aguda del tracto respiratorio inferior (9, 13). La importancia del virus RS en la etiología de los procesos respiratorios agudos en la infancia ha sido estudiada en Estados Unidos (2, 10, 11, 12, 17, 18, 29), Gran Bretaña (14, 20, 21, 28, 30, 32), Escandinavia (3, 38), Francia (31), Alemania (34, 42), Australia (15, 26), Japón (40) y otros países. No se han publicado hasta ahora datos sobre su presencia en España.

En especial los trabajos de Hilleman y colaboradores (19) y Chanock y colaboradores (11), han precisado que el virus RS es el agente productor de enfermedades respiratorias más importantes en la primera infancia. Se le considera responsable, en dicha edad, del 21 al 25 por 100 de los procesos respiratorios agudos que requieren hospitalización (10, 29). Ocasiona síndromes respiratorios variados (3, 10, 14, 15, 26, 32, 36); enfermedades menores de las vías aéreas superiores, bronquitis aguda y afecciones del tracto respiratorio inferior (bronquiolitis, bronconeumonía). La bronquiolitis es muy frecuente entre los menores de 6 meses. No produce generalmente laringotraqueitis (11). Se han observado defunciones en el curso de las infecciones por virus RS (2, 10, 15, 20, 21), que son más frecuentes entre los niños portadores de malformaciones congénitas o con otros procesos intercurrentes (3).

Entre los adultos la infección primaria es poco frecuente (19), y las reinfecciones ocasionan procesos menores del árbol respiratorio superior y síndromes de catarro común (2, 22, 23, 25).

Ha sido estudiada la presentación epidémica entre la población infantil que ocasiona un aumento estacional del número de niños hospitalizados por esta causa (1, 5, 8, 10, 14, 15, 16, 26, 29, 38, 40). Diversos autores han estudiado la presentación

de brotes epidémicos producidos por virus RS en centros de prematuros (6, 7) y colectividades infantiles más o menos cerradas (4, 24, 38, 39).

La colectividad infantil estudiada en el presente trabajo difiere notablemente de las que han sido estudiadas por otros autores, en el número de niños albergados, edad de los mismos y posibilidades de contacto con el exterior. En el Instituto de Puericultura de Barcelona se albergan unos mil niños que, por su distribución en diversas salas, algunas muy separadas entre sí, constituyen en realidad varias colectividades, por cuanto los niños no se relacionan. Este elevado número de niños nos obligó a elegir una muestra de los mismos para su estudio serológico, y a realizar el estudio de las epidemias observadas también mediante una muestra de los enfermos.

Por otra parte, los niños de esta colectividad pertenecen a un más amplio grupo de edades que las estudiadas por otros autores. Bretón (7) y Berkovich (6) estudian solamente niños prematuros; Berglund (4), niños menores de 2 años, y Sterner (38), niños menores de 3 años. Kapikian y colaboradores (24) estudian un grupo más semejante, de 6 meses a 4 años.

En general, las posibilidades de contacto con el exterior son menores en ésta que en otras instituciones estudiadas dado el carácter más cerrado de la misma.

Si bien en los primeros estudios sobre el virus RS (12) se dudó de la sensibilidad de los métodos serológicos, particularmente en los menores de 6 meses, se admite actualmente que tanto la seroneutralización como la RFC' tienen la misma o superior eficacia que el aislamiento del virus (17, 33). Para algunos autores la seroneutralización resulta más sensible (40), en tanto que otros obtienen mejores resultados con la FC' (33).

En nuestra encuesta utilizamos únicamente la RFC', realizándola en presencia de 2 unidades de antígeno, de la misma forma que hemos hecho sistemáticamente con los otros antígenos ensayados.

57 enfermos pertenecientes a los tres brotes epidémicos observados (13 en enero del 66, 9 en febrero del 66 y 35 en enero del 67) fueron estudiados con 2 UA. En estos enfermos, en los que las circunstancias epidemiológicas permiten pensar en una etiología común, se obtuvo el diagnóstico serológico de infección por RS en 29 (50,8 %).

Aunque algunos autores obtienen resultados similares con

2 UA (39), se ha señalado repetidamente la necesidad de utilizar 4 UA para aumentar la sensibilidad de la reacción en los niños pequeños (17, 33), y aun de emplear 8 UA en los niños menores de 6 meses (5, 10, 17, 41). Teniendo en cuenta estas precisiones, y dado que la mayoría de los niños estudiados estaban incluidos entre los 6 meses y los 5 años de edad, repetimos la reacción con 4 UA en aquellos casos que, epidemiológicamente, podían corresponder a una falta de sensibilidad de la reacción. Con 4 UA se obtuvieron tres nuevos diagnósticos, elevándose el porcentaje de diagnósticos obtenidos entre los 57 enfermos citados al 56,1 por 100. Este aumento en un 6 por 100 no desmerece la sensibilidad de la reacción con 2 unidades de antígeno, que ha sido capaz de detectar el 90,6 por 100 de los diagnósticos obtenidos.

El 56,1 por 100 de diagnósticos alcanzado en el estudio de 57 probables infecciones por virus RS no representa un porcentaje muy elevado, siendo menor que el conseguido por otros autores (3).

Todos los sueros tomados antes del comienzo de la enfermedad y los sueros precoces anteriores al 4.º día de enfermedad han sido negativos (< 8 ó < 4). Ello nada presupone sobre posibles infecciones anteriores, que se detectarían mejor en estos primeros sueros mediante la reacción de seroneutralización. Confirma este hecho la observación de una reinfección comprobada, en cuyo suero precoz el título fue también negativo, y los tiempos de persistencia de los anticuerpos fijadores del complemento observados en nuestro estudio. En efecto, a partir de los 4 meses son muy raros los títulos positivos, que no han superado nunca el título 8.

Del estudio de la distribución de los títulos hallados en diversos períodos tras el comienzo de la enfermedad, puede deducirse que los títulos ≥ 16 traducen una infección que ha evolucionado en los cuatro meses anteriores, y muy probablemente dentro de los dos meses anteriores a la fecha de obtención del suero. Por el contrario, los títulos 8 en la RFC' en una colectividad infantil, si bien indican contacto previo con el virus RS, no permiten ninguna deducción sobre el momento en que tuvo lugar la infección, como se demuestra con su hallazgo esporádico a los 10 y 17 meses. Teniendo en cuenta la gran prevalencia del virus en la colectividad, estos títulos mantenidos muy tardíamente deben reflejar reinfecciones.

Las infecciones por virus RS se han presentado en la colec-

tividad en forma epidémica, tal como ha sido observado en otras instituciones por todos los autores. Los casos esporádicos han sido raros, y aun los cuatro diagnosticados se relacionan con un brote epidémico ocurrido en la misma sala o salas próximas unas semanas después.

Los brotes epidémicos se han desarrollado en invierno, particularmente durante el mes de enero. No se han observado casos en primavera, como han sido registrados en colectividades de otros países (39). La difusión epidémica ha ocurrido durante los dos inviernos consecutivos de nuestro estudio.

El porcentaje de niños clínicamente enfermos durante los tres brotes epidémicos observados, en relación con el número total de residentes en la sala o salas en que se desarrollaron las infecciones, osciló ampliamente. El brote ocurrido en enero de 1967 afectó al 21,4 por 100, el de febrero del mismo año, al 44 por 100, y el de enero de 1968, al 71,8 por 100. Salvo el bajo porcentaje de afectados en la primera epidemia, las cifras correspondientes a las otras dos coinciden con los porcentajes observados por otros autores (4, 34). En algunas colectividades (39) se han descrito porcentajes de afectados aún más elevados (100 por 100).

Dos de los brotes epidémicos se produjeron entre niños de 1 a 2 años de edad, y otro entre niños de 2 a 4 años. Es necesario destacar que no se han presentado infecciones epidémicas por virus RS en las salas ocupadas por los menores de 1 año.

La difusión del virus a partir del primer caso observado fue muy rápida, a diferencia de lo observado por Sterner y colaboradores (39) en epidemia similar entre niños de menos de 8 meses. Probablemente la edad, superior en nuestros casos, sea la responsable de esta mayor rapidez de difusión teniendo en cuenta lo difícil que es que niños de 1 a 2 años permanezcan en sus cunas si el proceso no es grave.

En las epidemias observadas destaca la uniformidad del cuadro clínico en cada una de ellas. El brote de enero de 1966 cursó en forma de bronquitis agudas, el de febrero de 1966 en forma de severas afecciones del tracto respiratorio inferior y en enero de 1967 en forma de rinofaringitis. Paradójicamente, los cuadros más graves de la segunda epidemia ocurrieron entre niños mayores que en las otras dos.

El 1.º y 2.º de los brotes epidémicos evolucionaron en corto espacio de tiempo con características clínicas muy distintas y en salas muy independientes. En ausencia de aislamiento del virus

causal sólo podemos emitir hipótesis que intenten explicar la aparente contradicción de cuadros tan dispares como bronquitis aguda y bronquiolitis o neumonía, sobre todo cuando el segundo afectó a niños de mayor edad. Teniendo en cuenta la casi total independencia entre los dos pabellones afectados puede pensarse en la difusión sucesiva de dos virus distintos. Esta circunstancia no resulta imposible a tenor de la demostración por Coates y colaboradores (8) de la evolución simultánea de virus RS antigénicamente distintos en una misma epidemia. La posibilidad de que el primer brote epidémico fueran reinfecciones y el segundo primoinfecciones no se puede afirmar por cuanto todos los niños de la primera epidemia mostraron títulos negativos en el primer suero. Por el contrario, el hallazgo de títulos muy elevados en un suero tardío del 6.º al 8.º día en los enfermos de febrero parece más bien indicar que este segundo brote está constituido por reinfecciones (40). Siendo la neumonía uno de los cuadros observados en esta segunda epidemia conviene conocer que se ha descrito anteriormente (24) que la neumonía puede desarrollarse tanto con anticuerpos neutralizantes previstos como sin ellos.

En el curso del brote de enero de 1966 se diagnosticaron entre los niños que no sufrieron sintomatología clínica 11 casos de infección inaparente mediante el estudio de los sueros tomados sistemáticamente en el mes de marzo. Debe advertirse, sin embargo, que el concepto de enfermedad inaparente aplicado a una colectividad como la estudiada debe tener en cuenta la posibilidad de sintomatología banal que haya pasado desapercibida al personal de la institución por el gran número de niños a atender. De ahí que deban considerarse estos procesos inaparentes como infecciones no febriles que de acompañarse de síntomas respiratorios han sido muy leves. La existencia de infecciones inaparentes en niños que viven con sus familias ha sido descrita recientemente (16). En el brote epidémico de enero de 1967 no se diagnosticaron infecciones inaparentes entre los 8 niños estudiados por los sueros sistemáticos, aunque probablemente existieron, ya que se detectaron 5 títulos positivos a RS. Por otra parte, no es de extrañar esta falta de diagnósticos de infecciones inaparentes, puesto que en este caso los sueros sistemáticos de la primavera se tomaron en mayo, es decir, casi cuatro meses después del posible contacto.

Los cuadros clínicos observados, con independencia de los factores epidemiológicos que los condicionaron, han sido los clá-

sicamente citados en la literatura. La bronquitis aguda febril ha sido el síndrome más frecuente, seguido por la rinofaringitis. Proporcionalmente han sido poco frecuentes los procesos severos del tracto respiratorio inferior (bronquiolitis y neumonía). Las neumonías por RS se han observado en todos los grupos de edad hasta los 4 años, lo que coincide con las observaciones de otros autores (3, 24). Los tres casos de bronquiolitis observados, pertenecientes todos a un mismo brote, han ocurrido en niños de 2 a 3 años de edad, contra lo generalmente observado. No se ha registrado ningún cuadro de traqueolaringitis atribuible a RS, ni se produjo la defunción de ningún niño a causa de una infección por este virus.

En uno de los niños encuestados pudo demostrarse una reinfección por virus RS ocurrida con un intervalo de 11 meses entre ambos procesos. El cuadro clínico fue en ambos casos idéntico, bronquitis aguda. La respuesta serológica fue más elevada en el segundo proceso que en el primero. Estos datos coinciden totalmente con los publicados por Beem (1), que estudia 11 casos de reinfección demostrada por aislamiento, y con los de Suto y colaboradores (40), que publican otros 4 casos. Teniendo en cuenta la ausencia de reacciones serológicas cruzadas entre el virus RS y otros virus (13, 27), la existencia de reinfecciones en los niños y en los adultos ha sido establecida en diversas publicaciones (16, 19, 22, 23, 24, 25, 40) en función de la existencia de anticuerpos neutralizantes al comienzo de la enfermedad. Las reinfecciones descritas hasta el momento no se han podido atribuir a variaciones antigénicas del virus, edad del paciente al término de la primera infección, o prolongado período de tiempo entre ambas infecciones (1). De acuerdo con Chanock (11), se puede admitir que la incapacidad de los anticuerpos neutralizantes para prevenir o modificar la infección por virus RS depende de la propiedad de este virus de difundirse y replicarse primariamente en el epitelio superficial del tracto respiratorio, por lo que estas reinfecciones serían atribuibles a la falta de anticuerpos en las secreciones respiratorias.

En dos de las infecciones por virus RS demostradas serológicamente se ha obtenido al mismo tiempo un aumento significativo del título de anticuerpos frente al antígeno soluble de adenovirus. Una revisión de la literatura demuestra que ha sido bastante frecuente la evidencia de infecciones dobles en los procesos respiratorios agudos (21, 29). La existencia de infecciones en las que se ha demostrado, por aislamiento del virus y/o prue-

bas serológicas, la presencia simultánea o sucesiva de virus RS y adenovirus ha sido observada repetidamente. Suto y colaboradores comunican 3 casos (40); Sterner y colaboradores, 1 caso (39); Berglund y colaboradores, 2 casos (5), y Glezen y colaboradores, 4 casos (16). Nuestros 2 casos y los anteriormente descritos apoyan la opinión de que la infección por virus respiratorio sincitial puede activar una infección por adenovirus hasta entonces latente.

RESUMEN

Se describe una encuesta serológica realizada en una colectividad infantil de Barcelona. Se han diagnosticado 47 infecciones por virus respiratorio sincitial mediante la reacción de fijación del complemento. Dicho virus ha ocasionado el 24,82 por 100 de todos los procesos respiratorios agudos estudiados en dicha colectividad. La mayoría de los casos se ha presentado en tres brotes epidémicos ocurridos en enero de 1966, febrero de 1966 y enero de 1967. El primer brote epidémico produjo síndromes de bronquitis aguda; el segundo, afecciones severas del tracto respiratorio inferior (bronquiolitis y neumonías), y el tercero, cuadros clínicos de rinofaringitis.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Beem, M.: *Repeated infections with respiratory syncytial virus*. «J. Immunol.», 1967, 98, 1114.
- 2 Beem, M., F. H. Wright, D. Hamre, R. Egerer y M. Oehme: *Association of the chimpanzee coryza agent with acute respiratory disease in children*. «New Engl. J. Med.», 1960, 263, 523.
- 3 Berglund, B.: *Studies on respiratory syncytial virus infection*. «Acta Paediatr. Scand.», 1967, Supp. 176.
- 4 Berglund, B., y R. Mäntyjärvi: *Respiratory infections in children at a nursery in Finland. Virologic and epidemiologic studies over a 21 month period*. «Ann. Paediatr. Fenn.», 1966, 12, 143.
- 5 Berglund, B., y C.-H. Strahlmann: *Respiratory syncytial virus infection in hospitalized children*. «Acta Paediatr. Scand.», 1967, 56, 269.
- 6 Berkovich, S., y L. Taranko: *Acute respiratory illness in the premature nursery associated with respiratory syncytial virus infections*. «Pediatrics», 1964, 34, 753.
- 7 Breton, A., J. Samaille, B. Gaudier, G. Lefebvre y C. Ponté: *Isolement du virus syncytial (virus C.C.A. de Morris) au cours de manifestations respiratoires bénignes épidémiques chez des prématures*. «Arch. Franç. Paediatr.», 1961, 18, 459.
- 8 Coates, H. V., D. W. Alling y R. M. Chanock: *An antigenic analysis of respiratory syncytial virus isolats by a plaque reduction neutralization test*. «Amer. J. Epidem.», 1966, 83, 299.
- 9 Chanock, R. M., y L. Finberg: *Recovery from infants with respiratory illness of a virus related to chimpanzee coryza agent (C.C.A.). II. Epidemiologic aspects of infection in infants and young children*. «Amer. J. Hyg.», 1957, 66, 291.
- 10 Chanock, R. M., H. W. Kim, A. J. Vargosko, A. Deleva, K. M. Johnson, C. Cumming y R. H. Parrott: *Respiratory syncytial virus I. Virus recovery and other observations during 1960 outbreak of bronchiolitis, pneumonia, and minor respiratory disease in children*. «J.A.M.A.», 1961, 176, 647.
- 11 Chanock, R. M., y R. H. Parrott: *Acute respiratory disease in infancy and childhood. Present understanding and prospects for prevention*. «Pediatrics», 1965, 36, 21.
- 12 Chanock, R. M., R. H. Parrott, A. J. Vargosko, A. Z. Kapikian, V. Knight y K. M. Johnson: *Acute respiratory diseases of viral etiology. IV. Respiratory syncytial virus*. «Am. J. Publ. Health», 1962, 52, 918.
- 13 Chanock, R., B. Roizman y R. Myers: *Recovery from infants with respiratory illness of a virus related to chimpanzee coryza agent (C.C.A.). I. Isolation, properties and characterization*. «Amer. J. Hyg.», 1957, 66, 281.

- 14 Elderkin, F. M., P. S. Gardner, D. C. Turk y A. C. White: *Aetiology and management of bronchiolitis and pneumonia in childhood*. «Brit. Med. J.», 1965, 2, 722.
- 15 Forbes, J. A., N. Mck. Bennett y N. J. Gray: *Epidemic bronchiolitis caused by a respiratory syncytial virus: clinical aspects*. «Med. J. Aust.», 1961, 2, 933.
- 16 Glezen, W. P., H. Wulff, G. A. Lamb, C. G. Ray, T. D. Y. Hin y H. A. Wenner: *Patterns of virus infections in families with acute respiratory illnesses*. «Amer. J. Epid.», 1967, 86, 350.
- 17 Hamparian, V. V., A. Ketler, M. R. Hilleman, C. M. Reilly, L. Mc. Clelland, D. Cornfeld y J. Stokes (Jr.): *Studies on acute respiratory illnesses caused by respiratory syncytial virus. I. Laboratory findings in 109 cases*. «Proc. Soc. Exp. Biol.», 1961, 106, 717.
- 18 Hilleman, M. R.: *Respiratory syncytial virus*. «Amer. Rev. Resp. Dis.», 1963, 88, 181.
- 19 Hilleman, M. R., V. V. Hamparian, A. Ketler, C. M. Reilly, L. Mc. Clelland, D. Cornfeld y J. Stokes: *Acute respiratory illnesses among children and adultes*. «J.A.M.A.», 1962, 180, 445.
- 20 Holzel, A., L. Parker, W. H. Patterson, D. Cartmel, L. L. White, R. Purdy, K. M. Thompson y J. O'H. Tobin: *Virus isolations from throats of children admitted to hospital with respiratory and other diseases. Manchester 1962-64*. «Brit. Med. J.», 1965, 1, 614.
- 21 Holzel, A., L. Parker, W. H. Patterson, L. L. White, K. M. Thompson y J. O'H. Tobin: *The isolation of respiratory syncytial virus from children with acute respiratory disease*. «Lancet», 1963, 1, 295.
- 22 Johnson, K. M., H. H. Bloo, M. A. Mufson y R. M. Chanock: *Natural reinfection of adults by respiratory syncytial virus*. «New Engl. J. Med.», 1962, 267, 68.
- 23 Johnson, K. M., R. M. Chanock, D. Rifkind, H. M. Kravetz y V. Knight: *Respiratory syncytial virus. IV. Virus shedding, serologic response and illness*. «J.A.M.A.», 1961, 176, 663.
- 24 Kapijian, A. Z., J. A. Bell, F. M. Mastrotta, K. M. Johnson, R. J. Huebner y R. M. Chanock: *An outbreak of febrile illness and pneumonia associated with respiratory syncytial virus infection*. «Amer. J. Hyg.», 1961, 74, 234.
- 25 Kravetz, H. M., V. Knight, R. M. Chanock, J. A. Morris, K. M. Johnson, D. Rifkind y J. P. Utz: *Respiratory syncytial virus. III. Production of illness and clinical observations in adult volunteers*. «J.A.M.A.», 1961, 176, 657.
- 26 Lewis, F. A., M. L. Rae, N. I. Lehmann y A. A. Ferris: *A syncytial virus associated with epidemic disease of the lower respiratory tract in infants and young children*. «Med. J. Austr.», 1961, 2, 932.
- 27 Morris, J. A., R. E. Blount y R. E. Savage: *Recovery of cytopathogenic agent from chimpanzees with coryza*. «Proc. Soc. Exp. Biol. Med.», 1956, 92, 544.
- 28 Moss, P. D., M. O. Adams y J. O'H. Tobin: *Serologie studies with respiratory syncytial virus*. «Lancet», 1963, 1, 298.
- 29 Parrott, R. H., A. J. Vargosko, H. W. Kim, C. Cumming, H. C. Turner, R. J. Huebner y R. M. Chanock: *Role of respiratory syncytial virus in bronchiolitis, pneumonia and pharyngitis with bronchitis in children. II. Serologic studies over a 34 months period*. «J.A.M.A.», 1961, 176, 653.

- 30 Peacock, D. B., y S. K. Clarke: *Respiratory syncytial virus in Britain*. «Lancet», 1961, 2, 466.
- 31 Peyron, L.: *Diagnostic des infections à myxovirus parainfluenzae 1, 2, 3 et virus respiratoire syncytial par isolément et par la réaction de fixation du complément*. Tesis para la obtención del doctorado en la Universidad de Lyon. Sección de Farmacia, 1968.
- 32 Report of the Med. Res. Coun. *Working Party on Acute Respiratory virus infections. A collaborative study of the aetiology of acute respiratory infections in Britain 1961-64*. «Brit. Med. J.», 1965, 2, 319.
- 33 Ross, C. A. C., E. J. Stott, S. Mc. Michel y I. A. Crowther: «Arch. ges. virusforsch.», 1964, 14, 553.
- 34 Schneweis, K. E., M. Y. Käckell, R. Nolte, D. Sinapius y H. Brandis: *Respiratory-syncytial-virus-infektionen im Kindesalter, Virologische Untersuchungen*. «Dtsche. Med. Wschr.», 1966, 2, 69.
- 35 Sohier, R.: *La réaction de fixation du complément en virologie*. «Soc. Med. des Hôpitaux de Paris», 1964, 115, 15, 1273.
- 36 Sohier, R.: *Caractères clinico-épidémiologiques et prevention des infections respiratoires à virus autres que la grippe*. Symposium europeo para la lucha contra las enfermedades producidas por virus. Moscú, 19-23 julio 1966.
- 37 Sohier, R., M. M. Peillard, J. Gineste y J. Freyrier: *Microméthode en tubes pour la réaction de fixation du complément appliquée au diagnostic des infections à virus*. «Ann. Biol. Clin.», 1956, 14, 281.
- 38 Sterner, G., G. De Hevesy, M. Forsgren, G. Tunevall y S. Wolontis: *Acute respiratory illness in children. A serological study with virus and bacterial antigens*. «Acta Pediat. Scand.», 1965, 54, 336.
- 39 Sterner, G., S. Wolontis, B. Bloth y G. De Hevesy: *Respiratory syncytial virus. An outbreak of acute respiratory illnesses in a home for infants*. «Acta Paed. Scan.», 1966, 55, 273.
- 40 Suto, T., N. Yano, M. Ikeda, M. Miyamoto, S. Takai, S. Shigeta, Y. Hinumo y N. Ishida: *Respiratory syncytial virus infection and serologic epidemiology*. «Am. J. Epidem.», 1965, 82, 211.
- 41 Waterson, A. P., y D. Hobson: «Brit. Med. J.», 1962, 11, 1166.
- 42 Wigand, R., W. Burmeister, A. R. Arabio, H. Bauer y F. Lang: *Sur Aetiologie und Klinik der Atemwegsinfektionen im Kindesalter. I. Virologische Untersuchungen*. «Monatsschr. Kinderheilkde», 1965, 113, 591.

10. Foyard, D. B. y M. Clark: Respiratory function in the bovine. *Journal of Animal Science*, 1961, 21, 462.

11. Foyard, D.: Diferenciales del sistema de ventilación pulmonar en el bovino. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Buenos Aires*, 1962, 1, 1.

12. Foyard, D. y M. Clark: Respiratory function in the bovine. *Journal of Animal Science*, 1961, 21, 462.

13. Foyard, D. y M. Clark: Respiratory function in the bovine. *Journal of Animal Science*, 1961, 21, 462.

14. Foyard, D. y M. Clark: Respiratory function in the bovine. *Journal of Animal Science*, 1961, 21, 462.

15. Foyard, D. y M. Clark: Respiratory function in the bovine. *Journal of Animal Science*, 1961, 21, 462.

16. Foyard, D. y M. Clark: Respiratory function in the bovine. *Journal of Animal Science*, 1961, 21, 462.

17. Foyard, D. y M. Clark: Respiratory function in the bovine. *Journal of Animal Science*, 1961, 21, 462.

18. Foyard, D. y M. Clark: Respiratory function in the bovine. *Journal of Animal Science*, 1961, 21, 462.

19. Foyard, D. y M. Clark: Respiratory function in the bovine. *Journal of Animal Science*, 1961, 21, 462.

20. Foyard, D. y M. Clark: Respiratory function in the bovine. *Journal of Animal Science*, 1961, 21, 462.

21. Foyard, D. y M. Clark: Respiratory function in the bovine. *Journal of Animal Science*, 1961, 21, 462.

22. Foyard, D. y M. Clark: Respiratory function in the bovine. *Journal of Animal Science*, 1961, 21, 462.

23. Foyard, D. y M. Clark: Respiratory function in the bovine. *Journal of Animal Science*, 1961, 21, 462.

24. Foyard, D. y M. Clark: Respiratory function in the bovine. *Journal of Animal Science*, 1961, 21, 462.

25. Foyard, D. y M. Clark: Respiratory function in the bovine. *Journal of Animal Science*, 1961, 21, 462.

26. Foyard, D. y M. Clark: Respiratory function in the bovine. *Journal of Animal Science*, 1961, 21, 462.

27. Foyard, D. y M. Clark: Respiratory function in the bovine. *Journal of Animal Science*, 1961, 21, 462.

28. Foyard, D. y M. Clark: Respiratory function in the bovine. *Journal of Animal Science*, 1961, 21, 462.

29. Foyard, D. y M. Clark: Respiratory function in the bovine. *Journal of Animal Science*, 1961, 21, 462.

30. Foyard, D. y M. Clark: Respiratory function in the bovine. *Journal of Animal Science*, 1961, 21, 462.

31. Foyard, D. y M. Clark: Respiratory function in the bovine. *Journal of Animal Science*, 1961, 21, 462.

32. Foyard, D. y M. Clark: Respiratory function in the bovine. *Journal of Animal Science*, 1961, 21, 462.

33. Foyard, D. y M. Clark: Respiratory function in the bovine. *Journal of Animal Science*, 1961, 21, 462.

34. Foyard, D. y M. Clark: Respiratory function in the bovine. *Journal of Animal Science*, 1961, 21, 462.

35. Foyard, D. y M. Clark: Respiratory function in the bovine. *Journal of Animal Science*, 1961, 21, 462.

36. Foyard, D. y M. Clark: Respiratory function in the bovine. *Journal of Animal Science*, 1961, 21, 462.

37. Foyard, D. y M. Clark: Respiratory function in the bovine. *Journal of Animal Science*, 1961, 21, 462.

38. Foyard, D. y M. Clark: Respiratory function in the bovine. *Journal of Animal Science*, 1961, 21, 462.

39. Foyard, D. y M. Clark: Respiratory function in the bovine. *Journal of Animal Science*, 1961, 21, 462.

40. Foyard, D. y M. Clark: Respiratory function in the bovine. *Journal of Animal Science*, 1961, 21, 462.

41. Foyard, D. y M. Clark: Respiratory function in the bovine. *Journal of Animal Science*, 1961, 21, 462.

42. Foyard, D. y M. Clark: Respiratory function in the bovine. *Journal of Animal Science*, 1961, 21, 462.

AISLAMIENTO DE VIRUS RESPIRATORIO EN EL CURSO
DE UN BROTE EPIDEMICO DE PROCESOS RESPIRATO-
RIOS AGUDOS

por el Doctor Antonio Rodríguez Torres

ALAMAMIENTO DE VIRUS RESPIRATORIO EN EL CURSO
DE UN BROTE EPIDEMICO DE PROCESOS RESPIRATO-
RIOS AGUDOS

por el Doctor Antonio Rodriguez Torres

El virus respiratorio sincitial es el agente productor de enfermedades respiratorias agudas más importantes en la primera infancia, considerándosele responsable del 15 por 100 de los casos en comunidades abiertas y del 21 al 25 por 100 de los procesos respiratorios infantiles que requieren hospitalización (1, 6, 7, 9, 11, 17). En trabajos anteriores describimos el diagnóstico serológico de varios brotes epidémicos por virus RS en una comunidad infantil (14) y de casos en niños hospitalizados (13).

Durante los meses de diciembre de 1968 y enero de 1969 pudimos estudiar, mediante aislamiento y serología, un brote epidémico de procesos respiratorios agudos en una comunidad infantil, en el curso del cual logramos aislar dos cepas de virus respiratorio sincitial por primera vez en nuestro país. El estudio biológico del mencionado brote es el objeto de la presente comunicación.

DESCRIPCION DEL BROTE EPIDEMICO

A mediados del mes de diciembre de 1968 enfermaron varias niñas de la sala de Destetes II del Instituto de Puericultura de la Maternidad Provincial de Barcelona (Dr. J. Carbonell). Resultaron afectadas un 40 por 100 de las niñas albergadas cuyas edades oscilaban entre los 2 y 3 años y medio de edad. El proceso respiratorio agudo que presentaron fue de bronquitis febril, que en dos de los ocho casos registrados dio lugar a un síndrome bronconeumónico ligero.

A finales del mes de diciembre y comienzos de enero se produjeron numerosos casos de rinofaringitis con fiebre elevada, simultáneamente en una sala de niños de 1 y medio a 3 años y medio de edad (Cambó I), y en 2 salas de niños cuyas edades oscilaban entre el año y los 2 años y medio (salas 7 y 5). En las salas de los niños mayores enfermó el 52,3 por 100 y el cuadro por la temperatura elevada parecía un síndrome gripal; en las salas de los niños y niñas menores, el proceso afectó a la casi totalidad de los mismos (*tabla 1*).

En conjunto, de los 86 niños residentes en las cuatro salas, sufrieron la enfermedad en forma clínicamente aparente 61 (70,9 %).

En la misma Institución, pero en diferentes salas, se produjo durante la misma época un brote epidémico por virus parainfluenza tipo 3 (15).

TABLA 1

BROTE EPIDEMICO DE PROCESOS RESPIRATORIOS AGUDOS POR VIRUS RS EN 4 SALAS DEL INSTITUTO DE PUERICULTURA EN DICIEMBRE 1968 - ENERO 1969

SALA	Niños residentes		Niños con PRA *		Casos estudiados mediante:								
	Sexo	Edades	N.º	N.º	%	Aislamiento virus				Serología (RFC)			
						N.º	% de los enfermos	Diagnóstico (virus aislado)	%	N.º	% de los enfermos	Diagnóstico serológico	%
Deste-tes II	H.	2-3 ½ a.	20	8	40	2	25	0	0	2	25	2	100
Cambó I	V.	2-3 ½ a.	21	11	52,3	5	45,4	0	0	3	27,2	3	100
Sala 7	V. y H.	1-2 a.	23	21	91,3	4	19,04	2	50	6	28,5	4	66,6
Sala 5	V. y H.	1-2 a.	22	21	95,4	1	4,7	0	0	3	14,2	2	66,6
			86	61	70,9	12	19,6	2	16,6	14	22,9	11	78,5

* PRA = Procesos respiratorios agudos.

MATERIAL Y METODOS

MATERIAL CLINICO

Para conocer la etiología del brote epidémico se seleccionó una muestra del 20 por 100 de los enfermos aproximadamente. Estos casos se estudiaron mediante el intento de aislamiento de virus a partir de frotis faríngeo y la obtención de dos sueros (en algunos casos tres) para la práctica de reacciones serológicas (*tabla 1*). En total se estudiaron 16 casos; 10 mediante aislamiento y serología; 4 sólo por serología y 2 sólo por aislamiento (*tabla 2*).

M E T O D O S

Aislamiento de virus. Se utilizaron células KB desarrolladas en medio de hidrolizado de lactalbúmina en solución de Hanks con 10 por 100 de suero de ternera. Para la supervivencia sustituimos el suero de ternera por un 30 por 100 de líquido amniótico bovino. En algún caso los segundos pases se realizaron sobre células HEp-2 desarrolladas y mantenidas en los mismos medios.

El frotis faríngeo obtenido durante los cinco primeros días de la enfermedad fue sembrado directamente, a la cabecera del enfermo, sobre frascos de 60 ml. de capacidad con el cultivo celular bien desarrollado en supervivencia.

A las 4 horas realizamos un tratamiento antibiótico para suprimir la contaminación bacteriana, cambiando el medio de supervivencia por otro nuevo adicionado de 9.000 U/ml. de penicilina, 900 mlgr./ml. de estreptomocina y 0,5 U/ml. de micostatina. Tras 30 minutos a 33° C se cambia de nuevo el medio por otro con las cantidades habituales de antibióticos.

El cultivo celular se incubaba a 33° C. La lectura para la detección de la aparición de acciones citopáticas la realizamos diaria-

mente durante 14 días, cambiando el medio de supervivencia cada 4 días o más precozmente si se observa una acidificación excesiva.

De todos los aislamientos se realizaron tres pases sucesivos antes de considerarlos negativos.

Serología. Se obtuvo un suero precoz durante los 5 primeros días de la enfermedad y un suero tardío aproximadamente a los 15 días del anterior. En algunos casos, para detectar un posible descenso del título de anticuerpos, se obtuvo un tercer suero. Los sueros repartidos en pequeños volúmenes se conservan a -20°C hasta el momento de su ensayo.

Estudiamos los sueros obtenidos mediante la reacción de fijación del complemento realizada por el micrométodo en tubos de Sohler (16), del tipo Kolmer con fijación en frío. La reacción se considera positiva cuando la hemólisis es nula (++++) o como máximo del 20 por 100 (+++). Se utilizaron 2 U de antígeno FC de virus RS preparado mediante cultivo de la cepa Long sobre células KB. Se ensayaron simultáneamente los sueros en su primera dilución frente a un antígeno normal de células KB.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en el estudio de los 16 casos se resumen en la *tabla núm. 2*.

Aislamiento de virus: De los 12 casos estudiados se aislaron 4 cepas de virus, 2 de ellas con una acción citopática intensa y característica; se identificaron fácilmente por RFC como *Herpes simple*, virus que se encontraba probablemente en fase de latencia en los dos niños estudiados y que se reactivó por el proceso respiratorio.

En dos casos de la sala 7 se aisló un virus con acción citopática sincitial (*tabla 3*). Dicha ACP se observó en ambos casos al 2.º pase, que en uno de ellos fue realizado sobre células HEp-2. En ambos casos, desde el momento en que la ACP fue manifiesta, la RFC resultó positiva poniendo de manifiesto la existencia del antígeno fijador del complemento del virus respiratorio sincitial. Por consiguiente, para la identificación no fue necesario practicar la reacción de neutralización. Teniendo en cuenta que la ACP es idéntica a la que produce el virus para-

TABLA 2
CASOS DE INFECCION POR VIRUS RESPIRATORIO SINCITAL

Sala	Fecha co- mienzo en- fermedad	Nombre	Edad años meses	Cuadro clínico	Días en rela- ción con el comienzo	Aislamiento		SEROLOGIA			
						Resultado	Días de los sueros en relación con el comienzo	RFC RS	Antígenos		
									Parainfluenza 1 2 3		
DESTE- TES II	13-12-68	Marga- rita	3-6	Neumonía	+ 5	—	+ 5 + 22	64 32	0 0	0 0	0 0
	16-12-68	Esther	3-0	Bronquitis	+ 2	Herpes sim- ple	+ 2 + 19	0 32	0 0	0 0	0 0
	30-12-68	Miguel A.	1-9	Rinofaringitis febril	+ 2		—	+ 3 + 19 + 45	64 256 32	0 0 0	0 0 0
CAMBO I	30-12-68	Jorge T.	3-0	Rinofaringitis febril	+ 2	—					
	30-12-68	Jorge R.	1-6	Rinofaringitis febril	+ 2	—					
	3- 1-69	Pedro	3-0	Rinofaringitis febril	+ 2	—	+ 6 + 31 + 4 m ½	512 512 16	0 0 0	0 0 0	0 0 32
	4- 1-69	Mauricio	3-0	Rinofaringitis febril	+ 1	—	+ 5 + 14	64 64	0 0	0 0	8 8

SALA 7	29-12-68	Paquito	1-0	Rinofaringitis febril	+ 5	+ Herpes simple	+ 11 + 21	8 8	0 0	0 0	0 0
	3- 1-69	Javier	2-6	Rinofaringitis febril	+ 1	+ virus RS	+ 6 + 26 + 31	128 512 512	0 0 0	0 0 0	0 0 0
	4- 1-69	Federico	2-3	Rinofaringitis febril	+ 1	—	+ 5 + 25	256 64	0 0	0 0	0 0
	4- 1-69	Jorge	2-5	Rinofaringitis febril	+ 1	+ virus RS	+ 5 + 25	64 32	0 0	0 0	0 0
	4- 1-69	Manuel	1-9	Rinofaringitis			+ 5 + 30	64 256	0 0	0 0	0 0
	4- 1-69	Juan Carlos	2-1	Rinofaringitis febril			+ 5 + 25	8 0	0 0	0 0	0 0
SALA 5	2- 1-69	M. ^a Gloria	1-0	Rinofaringitis febril			+ 2 + 16	0 128	0 0	0 0	0 0
	3- 1-69	Juan Carlos	1-2	Rinofaringitis febril			+ 1 + 15	8 64	0 0	0 0	0 0
	4- 1-69	Francisco	1-6	Rinofaringitis febril	+ 1	—	+ 5 + 30	8 16	0 0	0 0	0 0

TABLA 3
AISLAMIENTO DE VIRUS RESPIRATORIO SINCITAL

Nombre	Edad años meses	Cuadro clínico	Días en re- lación al co- mienzo de la enferme- dad	Primer pase		Segundo pase		Tercer pase		Identifica- ción
				Células	ACP *	Células	ACP *	Células	ACP *	
JAVIER	2-6	Rinofaringi- tis febril	+ 1	KB	0 al 12° d.	HEp-2	+ al 6° d.	HEp-2	+ al 7° d.	RFC
JORGE	2-5	Rinofaringi- tis febril	+ 1	KB	0 al 12° d.	KB	+ al 8° d.	KB	+ al 3rd.	RFC

* ACP = Acción citopática (sincitios).

influenza tipo 3, se realizó una prueba de hemaglutinación con hematíes de cobayo que en ambos casos resultó negativa.

Mediante cultivos de células KB en cubreobjetos por la técnica de Barski pudimos estudiar preparaciones teñidas (Eritrosina-Orange G-Azul de toluidina) en los que se aprecia la típica ACP del virus aislado, con formación de sincitios con los núcleos en la periferia e inclusiones citoplásmicas eosinófilas rodeadas de un halo claro.

Serología. En conjunto, de los 14 casos estudiados mediante la RFC, practicada en dos o tres sueros, se consiguió el diagnóstico serológico de infección por virus RS en 11 (78,5 %). En todos los casos la RFC frente a los antígenos de virus parainfluenza tipos 1, 2 y 3 fue negativa.

El diagnóstico serológico (*tabla 4*) se consiguió en 6 casos por la demostración de un aumento significativo (≥ 4 veces) en dos sueros sucesivos; 5 casos presentaron ≥ 64 , en algunos acompañados de una disminución ≥ 4 veces en un tercer suero, lo que sí tiene un valor más concluyente. Sólo en 3 casos la RFC no permitió el diagnóstico, pero en todos ellos se observaron títulos positivos no significativos.

TABLA 4
DIAGNOSTICO SEROLOGICO

Núm. de casos estudiados (2 ó más sueros)	Reacción de fijación del complemento virus RS			
	Aumento significativo *	Títulos significativos **	Títulos no significativos	Títulos negativos
14	6 (42,8 %)	5 (35,7 %)	3 (21,4 %)	0
	11 (78,5 %)		3 (21,4 %)	

* ≥ 4 veces el título.

** ≥ 64 .

DISCUSION

La importancia y amplia difusión del virus respiratorio sincitial en las comunidades infantiles cerradas ha sido puesta de manifiesto por diversos autores (2, 4, 5, 10, 18). En un trabajo anterior (14) demostramos que dicho virus era el responsable del 24,82 por 100 de todos los procesos respiratorios agudos ocurridos entre diciembre de 1965 y abril de 1967 en la misma institución que ahora estudiamos.

La difusión epidémica del virus RS en el Instituto de Puericultura tuvo lugar en invierno (diciembre de 1968-enero de 1969). El brote se inició en una sala de niñas de 2 a 3 años y medio de edad, propagándose después a otras tres salas. El porcentaje de niños afectados fue variable (entre el 40 y el 95,4 %), pero destaca que la morbilidad fue mucho menor entre los niños mayores que entre los de 1 a 2 años quienes resultaron afectados en su casi totalidad. Estos datos son similares a los que observamos en el estudio de tres brotes epidémicos en años anteriores (14), aunque algo superiores entre los niños de menor edad.

Clínicamente los cuadros fueron benignos y en general con afectación exclusiva del tracto respiratorio superior. Los dos únicos casos de afectación severa del tracto respiratorio inferior fueron procesos bronconeumónicos en 2 niñas de más de 3 años de edad albergadas en una sala donde la infección cursó con afectación bronquial.

El aislamiento del virus respiratorio sincitial resulta extremadamente difícil por las razones siguientes:

1. Es extraordinariamente lábil a la acción de los agentes exteriores y soporta mal la congelación, por cuyo motivo debe realizarse la inoculación directa.

2. Aunque las líneas celulares continuas se prefieren para el aislamiento, su sensibilidad al crecimiento del virus varía notablemente de unas cepas celulares a otras.

3. En los medios de cultivo celular existen con frecuencia

inhibidores del virus respiratorio sincitial, en particular en el suero.

Las muestras deben ser inoculadas lo más rápidamente posible (8) y diversos autores (10, 6) han demostrado que la congelación de los productos patológicos es nefasta para el virus. La técnica de la inoculación directa de los cultivos celulares a la cabecera del enfermo, introducida por Berglund (3), aumenta notablemente las posibilidades de existir del aislamiento.

En el presente trabajo hemos intentado el aislamiento del virus RS según la técnica de inoculación directa que se sigue en el Laboratorio de Virología del profesor Sohier de Lyon (12). Teniendo en cuenta la posible influencia de la presencia del suero como agente inhibidor, el medio de supervivencia celular contiene en su lugar un 30 por 100 de líquido amniótico bovino.

De los 12 casos estudiados logramos el aislamiento de virus RS en 2 (16,6 %), cifra baja indudablemente pero muy satisfactoria si se considera cuán difícil resulta el aislamiento de este virus. En ambos casos el frotis faríngeo fue practicado durante el primer día de enfermedad.

La identificación mediante la RFC fue muy rápida y evidente en los dos casos, haciendo innecesaria la práctica de reacciones de neutralización.

Hemos realizado la reacción de fijación del complemento utilizando 2 U de antígeno como hacemos sistemáticamente con todos los antígenos de virus respiratorios. No repetimos la reacción con 4 U en los casos en que aquélla resultó negativa, lo que nos hubiera permitido probablemente reducir el número de dichos casos, porque en estas circunstancias epidemiológicas la reacción con 2 U se mostró satisfactoria en nuestros trabajos anteriores.

En conjunto, en el 78,5 por 100 de los casos se consiguió el diagnóstico serológico, y los restantes presentaron también títulos indicativos de contacto con el virus RS, pero que no permitía la certeza de infección reciente. Los casos de niños de 2 a 3 años y medio se diagnosticaron en su totalidad, mientras que en los menores (1-2 años y medio) sólo se consiguió el diagnóstico en el 66,6 por 100.

RESUMEN

Durante los meses de diciembre de 1968 y enero de 1969 se presentó un brote epidémico de procesos respiratorios agudos entre los niños acogidos en una institución de Barcelona. Resultó afectado un 70,9 por 100 de los niños, de 1 a 3 años y medio de edad, residentes en cuatro salas de la institución.

En una muestra de los enfermos se investigó la etiología mediante el aislamiento de virus a partir de frotis faríngeos sembrados directamente sobre células KB y la práctica de la reacción de fijación del complemento en dos sueros sucesivos.

Se aislaron dos cepas de virus respiratorio sincitial y se diagnosticó serológicamente la infección por el mismo virus en un 78,5 por 100 de los casos estudiados.

Se describen las características clínicas y epidemiológicas del brote y se comentan los resultados del estudio virológico.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Berglund, B.: *Respiratory syncytial virus infections in families*. «Acta Paediat., Scand.», 56, 395, 1967.
- 2 Berglund, B., y C. H. Strahlmann: *Respiratory syncytial virus infection in hospitalized children*. «Act. Pediatr.» (Upsala). Supl. 176, 1967.
- 3 Berglund, B., L. Vihma, J. Wickstrom: *Respiratory syncytial virus studies on children hospitalized during an outbreak of respiratory illness in Finland*. «Am. J. of Epidem.», 81, 271, 1964.
- 4 Verkovich, S., y L. Taranko: *Acute respiratory illness in the premature nursery associated with respiratory*. «Pediatrics», 34, 753, 1964.
- 5 Breton, A., J. Samaille, B. Gaudier, G. Lefevre y C. Ponte: *Isolement du virus syncytial (virus C.C.A. de Morris) au cours de manifestations respiratoires benignes épidémiques chez des prématures*. «Arch. Franc. Pediat.», 1961, 18, 459.
- 6 Chanock, R. M., H. W. Kim, A. J. Vargosko, A. Deleva, K. M. Johnson, G. Cumming y R. H. Parrot: *Respiratory syncytial virus. I. Virus recovery and other observations during 1960 outbreak of bronchiolitis, pneumonia and minor respiratory diseases in children*. «J.A.M.A.», 176, 647, 1961.
- 7 Chanock, R. M., y R. H. Parrot: *Acute respiratory diseases in infancy and childhood: present understanding and prospects for prevention*. «Pediatrics», 36, 21, 1965.
- 8 Hamparian, V. V., A. Ketler, M. R. Hilleman, C. M. Reilly, L. McClelland, D. Cornfeld, J. Stokes: *Studies of acute illnesses caused by respiratory syncytial virus. I. Laboratory finding in 109 cases*. «Proc. Soc. Exp. Biol. Med.», 106, 717, 1961.
- 9 Hilleman, M. R., V. V. Hamparian, A. Ketler, C. M. Reilly, L. McClelland, D. Cornfeld y J. Stokes: *Acute respiratory illnesses among children and adults*. «S.A.M.A.», 180, 445, 1962.
- 10 Kapikian, A. Z., J. A. Bell, F. M. Mastrota, K. M. Johnson, R. J. Huebner y R. M. Chanock: *An outbreak of febrile illness and pneumonia associated with respiratory syncytial virus infection*. «Amer. J. Hyg.», 74, 234, 1961.
- 11 Parrot, R. H., A. J. Vargosko, H. W. Kim, C. Cumming, H. C. Turner, R. J. Huebner y R. M. Chanock: *Serologic studies over a 34 month period of children with bronchiolitis, pneumonia and minor respiratory disease*. «J.A.M.A.», 176, 653, 1961.
- 12 Peyron, L.: *Diagnostic des infections à myxovirus para-influenzae 1, 2, 3 et virus respiratoire syncytial par isolement et par la réaction de fixation du complément*. Tesis para la obtención del doctorado en la Universidad de Lyon. Sección de Farmacia, 1968.
- 13 Pumarola, A., M. Cruz, A. Rodríguez-Torres, J. M. Corretger y E. Sán-

- chez: *Sobre tres casos de infección por virus respiratorio sincitial*. «Arch. Ped.», 105, 571, 1967.
- 14 Pumarola, A., A. Rodríguez-Torres, J. Carbonell-Juanico y X. Carbonell-Estrany: *Infections dues au virus respiratoire syncytial dans une collectivité infantile*. «Rev. Hyg. et Méd. Soc.», 16, 281, 1968.
- 15 Pumarola, A., A. Rodríguez-Torres y M. Beltrán: *Virus parainfluenza tipo 3 en una colectividad infantil*. Comunicación presentada al II Congreso Nacional de Microbiología, Madrid, noviembre 1969.
- 16 Sohier, R., M. M. Peillard, J. Gineste y J. Freydier: *Micro-méthode en tubes pour la réaction de fixation du complément appliquée au diagnostic des infections à virus*. «Ann. Biol. Clin.», 14, 281, 1956.
- 17 Sterner, G., G. de Heves, M. Forsgren, G. Tunevall y S. Wolontis: *Acute respiratory illness in children. A serological study with viral and bacterial antigens*. «Acta. Pediat. Scand.», 1965, 54, 336.
- 18 Sterner, G., S. Wolontis, B. Bloth y G. de Hevesy: *Respiratory syncytial virus. An outbreak of acute respiratory illnesses in a home of infants*. «Acta Paed.» (Upsala), 55, 273, 1966.

SOBRE TRES CASOS DE INFECCION POR VIRUS
RESPIRATORIO SINCITAL

por el Doctor Antonio Rodríguez Torres

REVISTA DE LA ASOCIACIÓN DE ESTUDIOS DE LA LINGÜÍSTICA Y LA LINGÜÍSTICA DE LA LENGUA CASTELLANA

REVISTA DE LA ASOCIACIÓN DE ESTUDIOS DE LA LINGÜÍSTICA Y LA LINGÜÍSTICA DE LA LENGUA CASTELLANA

El virus respiratorio sincitial fue aislado por Morris, Blount y Savage (1) en una epidemia de coriza en chimpancés, por cuyo motivo se le denominó inicialmente virus CCA (chimpanzee coryza agent). Posteriormente, al demostrarse su intervención en las enfermedades respiratorias agudas infantiles (2, 3), y la formación de sincitios en los cultivos celulares, adquirió su actual denominación.

Es un virus de tamaño medio, que se incluye dentro de los *Myxovirus*, subgrupo *Paramyxovirus*. Al igual que los virus gripales, está constituido por una cubierta externa y una parte central formada por un tubo hueco y arrollado de ribonucleoproteína, con simetría helicoidal. Se distingue de los virus gripales por su mayor tamaño (80 - 250 mu.) y porque el diámetro de la espiral es de 18 mu. Es sensible al éter y muy lábil frente al calor y a la mayoría de los agentes externos. Se cultiva en células Hela y KB, induciendo la formación de grandes masas multinucleadas de tipo sincitial, con inclusiones intracitoplasmáticas eosinófilas. A diferencia de los restantes paramyxovirus no hemaglutina ni hemoliza los glóbulos rojos ni provoca el fenómeno de la hemadsorción.

El virus respiratorio sincitial (RS) es el agente productor de enfermedades respiratorias agudas más importante en la primera infancia (4, 5, 6, 7), considerándose responsable del 15 por 100 de los casos en comunidades abiertas (8), y del 21 al 25 por 100 de los procesos respiratorios infantiles que requieren hospitalización (3, 9).

Tiene una especial preferencia por las más tempranas edades, alcanzando su mayor frecuencia durante los seis primeros meses de la vida (3, 10), siendo el principal responsable de los cuadros con afectación del tracto respiratorio inferior (8, 9).

El virus RS se presenta en forma epidémica de presentación anual y generalmente invernal, aunque también se observan brotes epidémicos en primavera (10).

Clínica

El virus RS ocasiona un cuadro respiratorio, febril o no, de 7 a 21 días de duración y que adopta fundamentalmente los tipos clínicos siguientes:

a) *Rinitis*, que puede ser el signo inicial de las restantes formas, y *faringitis*, ambas más frecuentes en niños mayores. El falso crup se presenta raramente.

b) *Bronquitis*, muchas veces asmatiforme, con auscultación de roncus, sibilancias y estertores de gran y mediana burbuja. La máxima incidencia se halla en niños pequeños y lactantes.

c) *Neumonía*, presente sobre todo en niños mayores, auscultándose estertores crepitantes y evidenciándose radiológicamente imágenes de infiltración parenquimatosa pulmonar.

d) *Las bronquiolitis* tienen en más del 50 por 100 de los casos el virus RS como agente causal en la primera infancia, predominando durante el primer año de la vida. La expresión clínica suele ser unívoca, iniciándose habitualmente con tos seca, persistente, seguida de una afectación prácticamente constante del estado general (postración, sensación de grave enfermedad, tinte grisáceo de la piel, cianosis peribucal o generalizada) y de la afectación progresiva del tracto respiratorio inferior: taquipnea y disnea extremas, respiración ruidosa esencialmente abdominal, tiraje supra, inter y subcostal; los hallazgos físicos son escasos, variables y de escaso valor diagnóstico y pronóstico, limitándose en general a la auscultación de aislados estertores subcrepitantes difusos y a la percepción radiológica de un enfisema generalizado en incremento de la trama hiliofugal y, más raramente, de condensaciones y atelectasias. La repercusión cardiovascular es frecuente.

A pesar de la gravedad del cuadro clínico, la mortalidad es menor del 5 por 100, incidiendo sobre todo en niños portadores de malformaciones congénitas o con otros procesos intercurrentes.

e) *Otitis media*: Durante distintas epidemias de infecciones respiratorias se han ido aislando virus RS del oído medio en un 25 al 90 por 100 de los niños en cuya faringe fue reconocido el mismo virus, la mayoría de las veces en menores de un año. La «otitis RS», a pesar de ello, no suele tener significación clínica importante, siendo escasos los signos objetivos de infla-

mación siempre que se consiga evitar la frecuente superinfección bacteriana.

En la presente nota se presentan tres casos clínicos de infección por virus RS diagnosticados serológicamente (11). Estos tres casos ingresados en el Servicio de Pediatría del Hospital Clínico y Provincial de Barcelona (prof. Cruz) constituyen la primera aportación entre hospitalizados en nuestra literatura.

Caso núm. 1

Mariano R. C., de 18 meses de edad.

Antecedentes familiares: Sin interés.

Antecedentes personales: Ambiente social deficiente; una habitación para 5 personas. Vivienda húmeda.

Antecedentes patológicos: Otitis a los 20 días de edad.

Diez días antes del ingreso (6-11-66), catarro de vías respiratorias altas, que remite con la administración de un antibiótico por vía oral.

Enfermedad actual: Tos productiva, con expectoración seromucosa y dolor torácico, acompañada de ruidos respiratorios, que persisten desde cuatro días antes de su admisión hospitalaria; al mismo tiempo, rinitis mucopurulenta, vómitos posingesta y abundantes deposiciones líquidas. El cuadro se acompaña de hipertermia de 39° C., y a él se asocia, al cabo de dos días de evolución, decaimiento, irritabilidad y halitosis.

Exploración de entrada (16-11-66):

a) Inspección: Escaso desarrollo pondoestatural. Sensación de grave enfermedad. Palidez de piel y mucosas. Distrofia de 2.º grado. Signos de insuficiencia respiratoria y deshidratación.

b) Cabeza: Frente olímpica. Fontanela puntiforme. Aleteo nasal.

c) Cuello: Normal.

d) Tórax: Marcado rosario costal. Tiraje supra, inter e infracostal. Estertores de mediana y pequeña burbuja diseminados en ambos hemitórax.

e) Abdomen: Meteorismo. Hepatomegalia de 2 traveses y medio de dedo, por debajo del reborde costal.

f) Boca y faringe: Enrojecimiento faríngeo. Moco en cavum. Muguet.

g) Sistema nervioso. Adinamia. Hipotonía generalizada. Semiobnubilación. Reflejos tendinosos normales.

h) Hemograma: Leuc., 7.200 mm.c.; Hematocr., 41 por 100; Eos., 6; Seg., 38; Linf., 48; Mon., 4.

i) VSG: 1.^a h., 2 mms.; 2.^a h., 10.

j) Radiología torácica: Enfisema generalizada; refuerzo lineal de trama pulmonar con imagen triangular hiliar medio-derecha de disposición segmentario-atelectásica.

Evolución: A los tres días de su ingreso, sometido a tratamiento antibiótico y dietético adecuados, se había operado una gran mejoría del estado general. En las 24 horas siguientes cedió la fiebre, persistiendo únicamente a la auscultación respiratoria algún roncus aislado. Después de tres nuevos días, aunque persistía el buen estado general, se perciben roncus, sibilancias y estertores de mediana y pequeña burbuja, signos que desaparecieron definitivamente en 48 horas.

Diagnóstico sindrómico: Bronquiolitis.

Diagnóstico serológico: Se obtuvo un primer suero al 5.^o día de enfermedad (17-11-66) y un suero tardío a los 24 días del comienzo.

En el suero precoz, la RFC fue negativa frente a los antígenos de virus RS, virus parainfluenza, tipos 1, 2 y 3, gripe A y B, mycoplasma pneumoniae y ornitosis. En dicho suero se obtuvo un título de 64 frente al antígeno soluble de adenovirus.

El suero tardío demostró un título de 32 frente al virus RS y un título de 16 frente a adenovirus, siendo negativa la reacción frente a los restantes antígenos.

Diagnóstico etiológico: Bronquiolitis por virus respiratorio sincitial.

Caso núm. 2

Fernando S. D., de dos años y medio de edad.

Antecedentes familiares y personales: Sin interés.

Antecedentes patológicos: Algún catarro de vías altas. Quemaduras por leche hirviendo en cuello, axilas, hombros, manos y pies, abarcando un 33 por 100 de la superficie corporal y motivando una prolongada estancia hospitalaria.

Enfermedad actual: El día 2-11-67, coincidiendo con un brote de faringitis en el «box» donde se hallaba internado (como

asimismo el caso núm. 3), fiebre de 38,2° C. Veinte días antes se le había observado una moderada fiebre en agujas.

Exploración:

- a) Inspección: Niño en regular estado nutritivo. Buena coloración de piel y mucosas.
- b) Cabeza: Rinitis.
- c) Cuello: Normal.
- d) Tórax: Conformación y exploración física normales.
- e) Abdomen: Blanco, depresible. No hígado ni bazo palpables.
- f) Boca y faringe: Faringe uniformemente enrojecida.
- g) Sistema nervioso: Normal a la exploración.
- h) Hemograma: Leuc., 7.600 mm. c.; Hematocr., 30 por 100; Band., 4; Seg., 30; Lif., 64; Mon., 2.
- i) Radiología torácica: Normal.

Evolución: A los tres días del comienzo, el cuadro clínico ha desaparecido.

Diagnóstico sindrómico: Rinofaringitis aguda.

Diagnóstico serológico: Se obtuvo un primer suero a las 24 horas del comienzo de la sintomatología (3-11-67) y un suero tardío a los 12 días del comienzo.

En el suero precoz, la RFC fue negativa frente a los antígenos del virus RS, parainfluenza tipos 1 y 2, adenovirus, influenza A y B, mycoplasma pneumoniae y ornitosis, obteniéndose un título de 256 frente al antígeno soluble de parainfluenza 3.

El suero tardío demostró un título de 32 frente al virus RS y de 256 frente al parainfluenza tipo 3, siendo negativa la reacción ante los restantes antígenos investigados.

Diagnóstico etiológico: Rinofaringitis por virus respiratorio sincitial. Infección anterior reciente por virus parainfluenza.

Caso núm. 3

Javier G. R., de 10 meses de edad.

Antecedentes familiares y personales: Sin interés.

Antecedentes patológicos: Quemaduras en brazo, tórax, espalda y piernas, interesando un 23 por 100 de la superficie cor-

poral, por caída en una tina con agua caliente, que obligaron a su ingreso en el Servicio.

Enfermedad actual: El día 3 de noviembre de 1967, durante su estancia hospitalaria y coincidiendo con un proceso similar que afectó a otros tres niños del «box» con 7 camas, proceso catarral febril, con temperatura de 39,4° C.

Exploración:

a) Inspección: No sensación de gravedad. Ligeros signos de insuficiencia respiratoria. Discreto tiraje supraesternal.

b) Cabeza: Rinitis secretante.

c) Cuello: Normal.

d) Tórax: Ligero tiraje supraesternal. Auscultación de estertores de mediana burbuja y sibilantes diseminados por ambos hemitórax.

e) Abdomen: Exploración normal.

f) Boca y faringe: Faringe congestiva.

g) Sistema nervioso: Normal.

h) Radiología torácica: Refuerzo congestivo de trama pulmonar, bilateralmente reforzada, con zona hilio-basal interna derecha congestivo-exudativa.

i) Hemograma: Leuc., 13.000 mm.c.; Hematocr., 28 por 100; Eos., 1; Band., 7; Seg., 58; Linf., 34.

j) Análisis de orina: Normal.

k) Pruebas tuberculínicas: Negativas.

l) Hemocultivo: Negativo.

Evolución: La fiebre y los signos respiratorios cedieron con rapidez, normalizándose el cuadro clínico en 5 días y el radiológico en una semana.

Diagnóstico sindrómico: Bronquitis asmátiforme.

Diagnóstico serológico: Se obtiene un primer suero al 2.º día de enfermedad (5-11-67) y un suero tardío a los 13 días de su iniciación.

En el suero precoz, la reacción de fijación del complemento fue negativa frente a los antígenos del VRS, virus parainfluenza 1, 2 y 3, influenza A y B, adenovirus, mycoplasma pneumoniae y ornitosis.

El suero tardío mostró un título de 32 frente al virus RS, siendo negativa la reacción frente a los restantes antígenos.

Diagnóstico etiológico: Bronquitis por virus respiratorio sincitial.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Morris, J. A., R. E. Blount y R. E. Savage: *Recovery of cytopathogenic agent from chimpanzees with coryza*. «Proc. Soc. Exper. Biol. Med.», 92, 544, 1956.
- 2 Chanock, R. M., y L. Finberg: *Recovery from infants with respiratory illness of a virus related to chimpanzee coryza agent (C.C.A.)*. «Amer. J. Hyg.», 66, 291, 1957.
- 3 Chanock, R. M. y col.: *Respiratory syncytial virus. I. Virus recovery and others observations during 1960 outbreak of bronchiolitis, pneumonia, and minor respiratory disease in children*. «J.A.M.A.», 76, 647, 1961.
- 4 Chanock, R. M. y R. H. Parrott: *Acute respiratory disease in infancy and childhood*. «Pediatrics», 36, 21, 1965.
- 5 Hilleman, R. M. y col.: *Acute respiratory illnesses among children and adults*. «J.A.M.A.», 180, 445, 1965.
- 6 Stott, E. J. y col.: *A comparative virological study of children in hospital with respiratory and diarrhea illnesses*. «J. Hyg.» (Londres), 65, 9, 1967.
- 7 Berglund, B.: *Respiratory syncytial virus infections in families*. «Acta Pediatr. Scand.», 56, 395, 1967.
- 8 Kendig, E. L. Jr.: *Disorders of the respiratory tract in children*. «W. B. Saunders Co.» (Filadelfia y Londres), 1967.
- 9 Parrott, R. H. y col.: *Role of R.S. virus in bronchiolitis, pneumonia and pharyngitis with bronchitis in children. II. Serologic studies over 34 month period of children with bronchiolitis, pneumonia and minor respiratory diseases*. «J.A.M.A.», 176, 653, 1961.
- 10 Berglund, B.: *Studies on respiratory syncytial virus infection*. «Acta Pediatr. Scand.», Supl., 176, 1967.
- 11 Sohier, R. y col.: *Microméthode en tubes pour la reaction de fixation du complement appliquée au diagnostique des infections à virus*. «Ann. Biol. Clin.», 14, 281, 1956.

ANTICUERPOS FRENTE AL VIRUS RESPIRATORIO SIN-
CITAL EN SUEROS DE INDIVIDUOS NORMALES
DE DIFERENTES GRUPOS DE EDAD

por el Doctor Antonio Rodríguez Torres

DE INGENIERIA - (C) 1964 DE EDV
CENTRO DE INVESTIGACIONES Y ESTUDIOS
CIENTIFICOS Y TECNOLÓGICOS

El presente estudio, de ámbito epidemiológico, completa el panorama de las investigaciones realizadas sobre el virus respiratorio sincitial en nuestro país.

De diferentes procedencias se obtuvieron sueros de niños y adultos no enfermos del aparato respiratorio para conocer la presentación de *anticuerpos frente al virus RS según la edad*. Ello nos podría permitir conocer a qué edad ocurre entre nosotros la primoinfección por el virus RS y cuál es la prevalencia de dicho virus. Indirectamente, puede deducirse cuál es la inmunidad de la población por contactos anteriores.

Las procedencias de los sueros estudiados fueron las siguientes:

a) Dispensario de Puericultura del Hospital Clínico y Provincial de Barcelona.

b) Dispensario de la Lucha Antivenérea de la Jefatura Provincial de Sanidad.

c) Servicio de Transfusiones de la Jefatura Provincial de Sanidad.

d) Guarderías del Servicio Social.

Se obtuvieron un total de 156 sueros.

Todos ellos se estudiaron en la reacción de fijación del complemento por la técnica descrita en otra parte de esta Memoria. Se utilizaron 4 U_A en la reacción, y se ensayaron las diluciones 1/2, 1/4 y 1/8, con control del suero para todas las diluciones, y control con antígeno normal de células KB.

Ocho sueros resultaron anticomplementarios a las diluciones ensayadas, por cuyo motivo se consideran solamente los resultados obtenidos en 148 sueros (*tabla 1*).

En conjunto, en 66,89 por 100 de los sueros se demostraron anticuerpos al título 2, en 58,78 por 100 al título 4 y en el 35,80 por 100 al título 8. Esto indica la gran prevalencia del virus RS entre la población. Los títulos 8 no son tan frecuentes como los de 2 y 4, hecho explicable porque aquéllos probablemente sólo se mantienen tras infecciones recientes. En nuestra opinión los títulos de 2 y 4 reflejan bien contactos anteriores en fecha no precisable.

TABLA 1

REACCION DE FIJACION DEL COMPLEMENTO FRENTE AL VIRUS RS. SUEROS DE INDIVIDUOS DE DIVERSOS GRUPOS DE EDAD

<i>Edades</i>	<i>N.º de sueros estudiados</i>	<i>Número de resultados positivos de los títulos</i>		
		2	4	8
0-5 meses	28	9 (32,14 %)	5 (17,85 %)	5 (17,85 %)
6-11 meses	21	2 (9,52 %)	2 (9,52 %)	2 (9,52 %)
12-24 meses	9	6 (66,66 %)	4 (44,44 %)	1 (11,11 %)
2-5 años	11	9 (81,81 %)	9 (81,81 %)	5 (45,45 %)
6-10 años	18	17 (94,44 %)	15 (83,33 %)	12 (66,66 %)
11-20 años	21	19 (90,45 %)	18 (85,71 %)	10 (47,61 %)
21-30 años	15	14 (93,33 %)	14 (93,33 %)	8 (53,33 %)
31-40 años	7	7 (100 %)	6 (85,71 %)	4 (57,14 %)
41-50 años	13	11 (84,61 %)	10 (76,92 %)	5 (34,46 %)
Más de 51 años	5	5 (100 %)	4 (80 %)	1 (20 %)
TOTAL	148	99 (66,89 %)	87 (58,78 %)	53 (35,80 %)

La distribución por edades refleja un *32,14 por 100 de títulos positivos (2) antes de los seis meses*, expresivo de anticuerpos pasivos de origen materno.

Entre los *6 meses y el año de edad*, la frecuencia de anticuerpos es baja. Ello explica la mayor incidencia de los procesos por virus RS en esta edad y su mayor gravedad.

Entre 1 y 2 años, un *66,66 por 100* de los niños se han puesto ya en contacto con el virus RS. *A partir de los 2 años más del 80 por 100 de los individuos presentan anticuerpos*, que en porcentajes similares se presentan en todos los grupos de edad, hasta las más avanzadas, mantenidos en éstas probablemente por reinfecciones.

ESTUDIO OPTICO Y ELECTRONICO DE LA MORFOLOGIA DE LA TRANSMISION NERVIOSA A NIVEL DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL. APORTACIONES CON UNA NUEVA TECNICA

por el Profesor Doctor F. Abadía-Fenoll

Faint, illegible text at the top of the page, possibly bleed-through from the reverse side.

Another line of faint, illegible text below the first block.

INTRODUCCION

La sinapsis, término empleado por Sherrington en 1897 para expresar la conexión funcional entre dos células del sistema nervioso, es uno de los puntos en donde se halla patente el hecho de que la anatomía y la función resultan ser como dos versiones de un mismo problema. De cuanto se ha escrito sobre sinapsis, resultan ser de interés los resúmenes de Cajal, 1934; Bodian, 1942; Horstmann, 1957; de Robertis, 1958-59; Palay, etc. En síntesis, la sinapsis es el conjunto formado por una parte (distal) efectora —extremo de un axón—, también llamada botón terminal o saco presináptico, y la parte neuronal receptora o subsinapsis. En época anterior a la venida de la microscopía electrónica, lo que generalmente perseguían las técnicas utilizadas y los distintos autores era poner de manifiesto el saco presináptico; así acontece desde los primeros procedimientos utilizados por Cajal, hasta los de Barr, 1939; Armstrong, Richardson y Joung, 1956; Rasmussen, 1957; Knoche, 1961; Sterling y Kuypers, 1966, etc.

La mayor parte de las técnicas empleadas para la impregnación del tejido nervioso ponen de manifiesto con preferencia un elemento de los distintos que entran a formar parte en la composición del mismo, mientras que los demás, o no aparecen o lo hacen muy defectuosamente. Ello puede representar tanto una ventaja —que permita seguir bien y aisladamente a los elementos demostrados— como un inconveniente, «ya que la selectividad tan exclusiva que proporcionan buena cantidad de métodos de los empleados para la demostración de las estructuras del tejido nervioso, nos dificulta el estudio comparativo» (Cajal, 1913).

La técnica por nosotros desarrollada para el estudio de los efectos nerviosos ofrece como peculiaridad el que las estructuras reveladas, aparte de ser normales, es decir, sin desarrollo de degeneraciones, proporcionan datos tisulares lo suficientemente completos como para poder establecer estudios comparativos entre la pre y subsinapsis a diversos niveles del SNC. Por otra

parte, la equiparación de los resultados que se obtengan en la microscopía óptica con aquellos que se consigan de las observaciones que hagamos en la microscopía electrónica, nos proporcionará material de interés para la comprobación y el esclarecimiento de la forma y distribución de estos elementos sinápticos.

En el presente trabajo realizamos un estudio de estructuras sinápticas y sus diferencias en distintas regiones del sistema nervioso central (romboencéfalo, mesencéfalo, diencéfalo y telencefalo). El trabajo se realiza siguiendo fundamentalmente observaciones hechas a lo largo de la vía acústica. Aparte de ello, relataremos cuantas observaciones colaterales juzguemos de interés. El estudio ha sido efectuado en cerebros de gato.

MATERIAL Y METODO

En el presente trabajo se han empleado 10 gatos (de una edad aproximada de 1 año) para cortes frontales y horizontales de telencéfalo, diencéfalo, mesencéfalo y romboencéfalo.

Para llevar a cabo las observaciones realizadas en microscopía electrónica se emplearon 4 gatos.

Proceder para las observaciones en microscopía óptica: Los gatos fueron heparinizados una hora antes de comenzar los procedimientos de fijación por perfusión.

Una vez perfundidos unos 500 c. c. de fijador, se procedió a la extracción del cerebro y después de troceado debidamente (según se tratara de observaciones para óptico o para electrónico), se continuó la fijación de las piezas en líquido fijador, preparado del mismo modo que el que habíamos empleado en la perfusión.

Proceder general llevado a cabo en los estudios realizados para microscopía óptica:

1. Fijación por perfusión de glutaraldehído-fosfatomonosódico. Extracción del cerebro y continuación de la fijación durante 7 días en el mismo líquido.
2. Lavado de las piezas por un tiempo de 3 a 5 horas.
3. Verificar cortes por congelación de 25 micras de espesor.
4. Introducir los cortes en el líquido mordiente de 1 a 2 horas.
5. Lavar en agua destilada de 3 a 5 horas.
6. Introducir los cortes en el baño argéntico por un tiempo de 45 minutos a 22° C.
7. Lavar en metanol absoluto 2 segundos.
8. Reducir en la mezcla agua-alcohol-metanol con ácido pirogálico.
9. Lavar en agua destilada. Deshidratar y montar en alcohol, carbol-xilol y bálsamo del Canadá

Solución mordiente: A 1 litro de agua destilada añadir 5 gramos de tartrato sódico y 3 gramos de anhídrido crómico. Disol-

ver y dejar la mezcla madurando durante 20 a 30 días. Pasado este tiempo, la solución está lista para su uso.

Solución argéntica: A 50 c. c. de agua destilada se le añaden 10 gramos de nitrato de plata, se disuelven y se añaden 15 gramos de nitrato potásico, volviendo a disolver. Se deja reposar la mezcla un día.

Solución pirogálica reductora: A 50 c. c. de agua destilada se añaden 30 c. c. de etanol absoluto y 20 c. c. de metanol; a la mezcla se adiciona 1 gramo de ácido pirogálico. Se calienta a 40°.

Solución fijadora: A 150 c. c. de glutaraldehído al 25 por 100 se le añaden 600 c. c. de fosfatomonosódico al 2,5 por 100 en agua destilada; a la solución se añaden 6 c. c. de cloruro cálcico al 1 por 100.

Es fundamental el conseguir una buena fijación del tejido para la consecución de imágenes aceptables, cosa que ya algunos como Ha (1966) habían observado en la utilización de sus técnicas. Se obtiene variación en los resultados si la perfusión no se consigue realizar de modo adecuado.

En cuanto al proceder seguido para los estudios realizados con el microscopio electrónico, se ha seguido la técnica general de perfusión en glutaraldehído tamponado, posfijación en ácido ósmico, deshidratación, inclusión y contrastado con acetato de plomo:

1. Inyección de glutaraldehído tamponado a través del ventrículo izquierdo después de abrir la cavidad torácica.
2. Extracción del cerebro y continuación de la fijación en glutaraldehído tamponado, en nevera a 0° durante 4-5 horas.
3. Lavado tres veces durante una hora en solución tampón.
4. Fijación en tetróxido de osmio al 3 por 100 con solución tampón 2 horas a 0°.
5. Deshidratación e inclusión en:
 - Acetona.
 - Oxido de propileno.
 - Araldita.
6. Corte con ultramicrotomo Reichert.
7. Observaciones con Zeiss EM9.

El glutaraldehído se utiliza al 25 por 100 una parte y se le añade de la solución tampón cuatro partes.

El tampón se preparó del siguiente modo:

Millonig. Solución A = Solución acuosa de fosfato monosódico, 2,26 por 100.

Solución B = Solución acuosa de hidróxido sódico, 2,52 por 100.

Solución C = Solución de glucosa, 5,4 por 100.

Mezclar 41,5 c. c. de solución A con 8,5 c. c. de solución B.

Quitar 5 c. c. de la mezcla anterior y añadirlos de la solución C.

Añadir 0,5 c. c. de cloruro cálcico al 1 por 100. Al glutaraldehído se le pueden adicionar 5 gramos de carbón de coco por cada 5 c. c.

OBSERVACIONES

Llevadas a cabo las impregnaciones argénticas, y para realizar el estudio comparativo de la morfología sináptica a distintos niveles de sistema nervioso central, hemos querido seguir, como se ha dicho anteriormente, una vía tan propicia como la acústica, en la que tenemos sucesivos contactos a niveles diversos de romboencéfalo, mesencéfalo, diencefalo y telencefalo. Junto a estas observaciones, efectuamos algunas otras, que creemos de interés para la comparación de resultados.

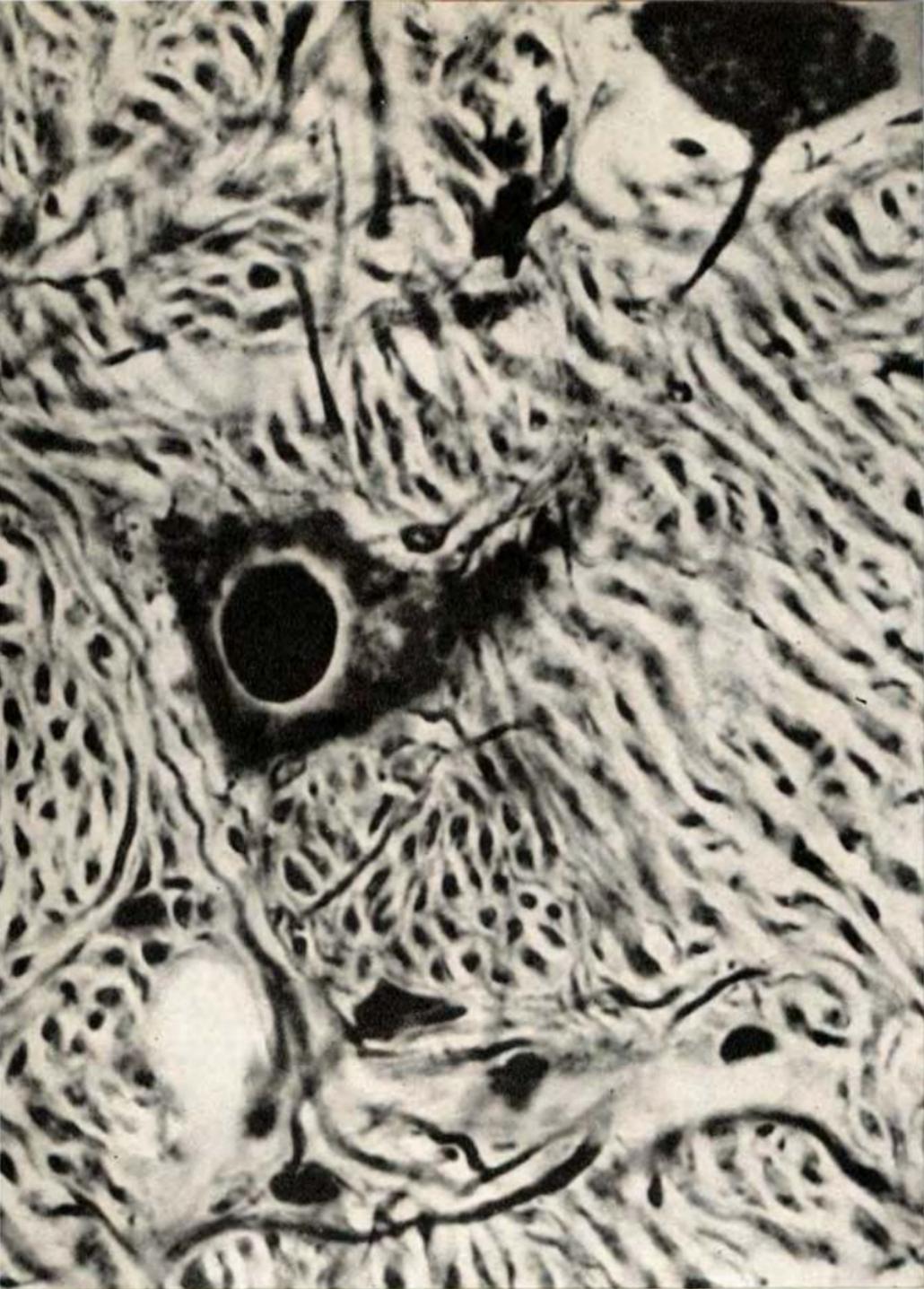
Los resultados observados han recaído en lo fundamental sobre:

- El núcleo ventral del coclear.
- Núcleos del cuerpo trapezoide.
- Núcleos preolivares.
- Oliva superior.
- Formación reticular.
- Tubérculos cuadrigéminos.
- Geniculados medial y lateral.
- Núcleos principales del tálamo.
- Corteza cerebral.

El núcleo ventral del coclear: Distinguimos en este núcleo diversas zonas, con formaciones sinápticas de variada índole en cuanto a forma y tamaño. El núcleo ventral ofrece una zona interfascicular, a la que pertenecen las neuronas de las figuras 1 y 2. En estas figuras el soma neuronal y sus dendritas aparecen distribuidos entre un conjunto de grandes fibras pertenecientes a los haces del nervio coclear; en la superficie del soma se distinguen en ambas figuras bulbos sinápticos a manera de saquitos engarzados en el extremo de una fibra. En la parte inferior de la neurona de la figura 1 se ve una formación que en cierto modo es análoga a las anteriores, pero la dilatación está intercalada en el transcurso de una fibra; la imagen es análoga a la que observamos en la figura 3 y representa dilataciones de ca-



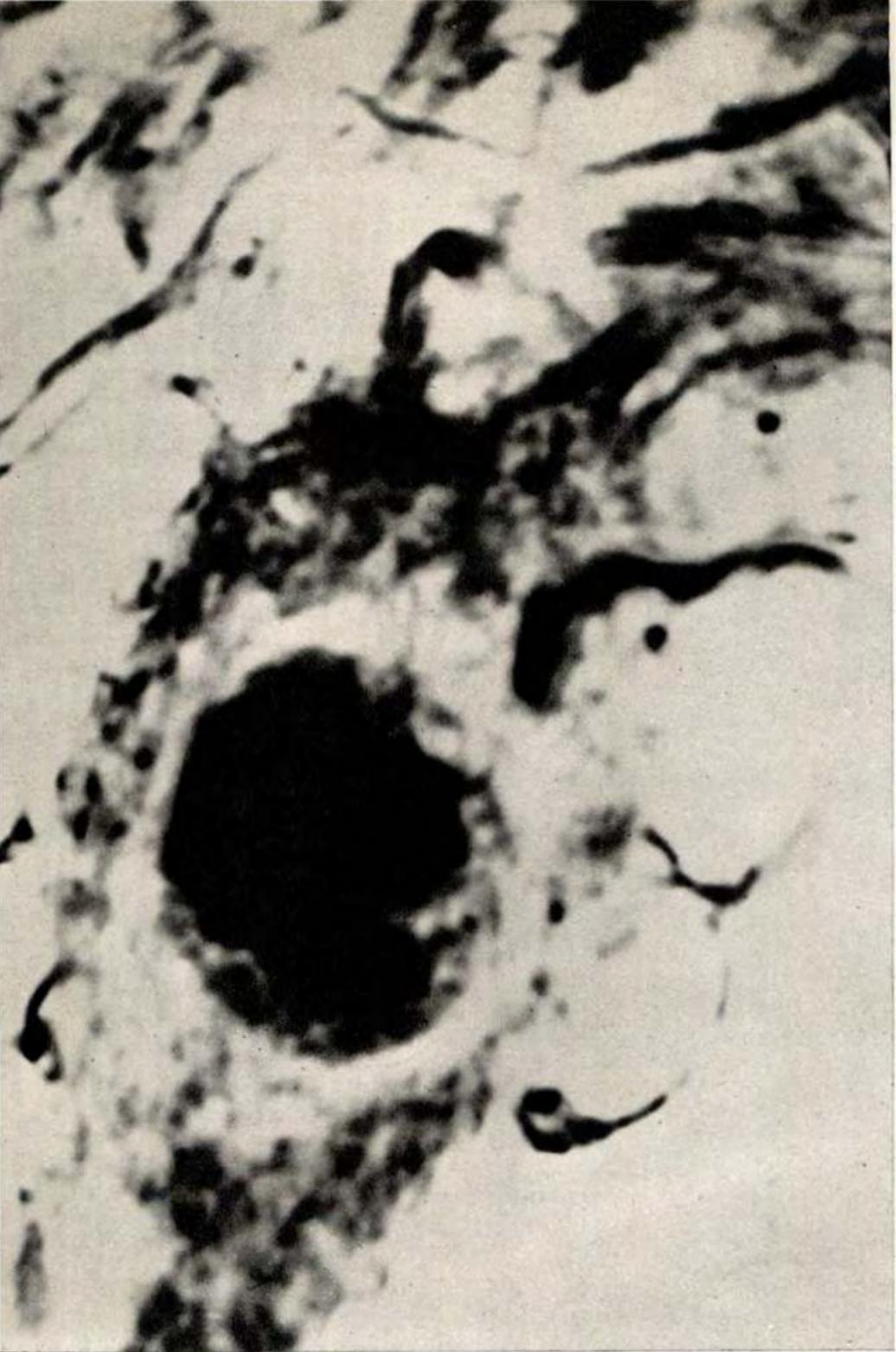
1. Neurona del núcleo coclear ventral.
Superiormente, y sobre el soma neuronal, sacos
presinápticos, conectados con su fibra preterminal.
Inferiormente, dilatación «en passant».



2. Neurona del núcleo
coclear ventral mostrando botones
en forma de saco.



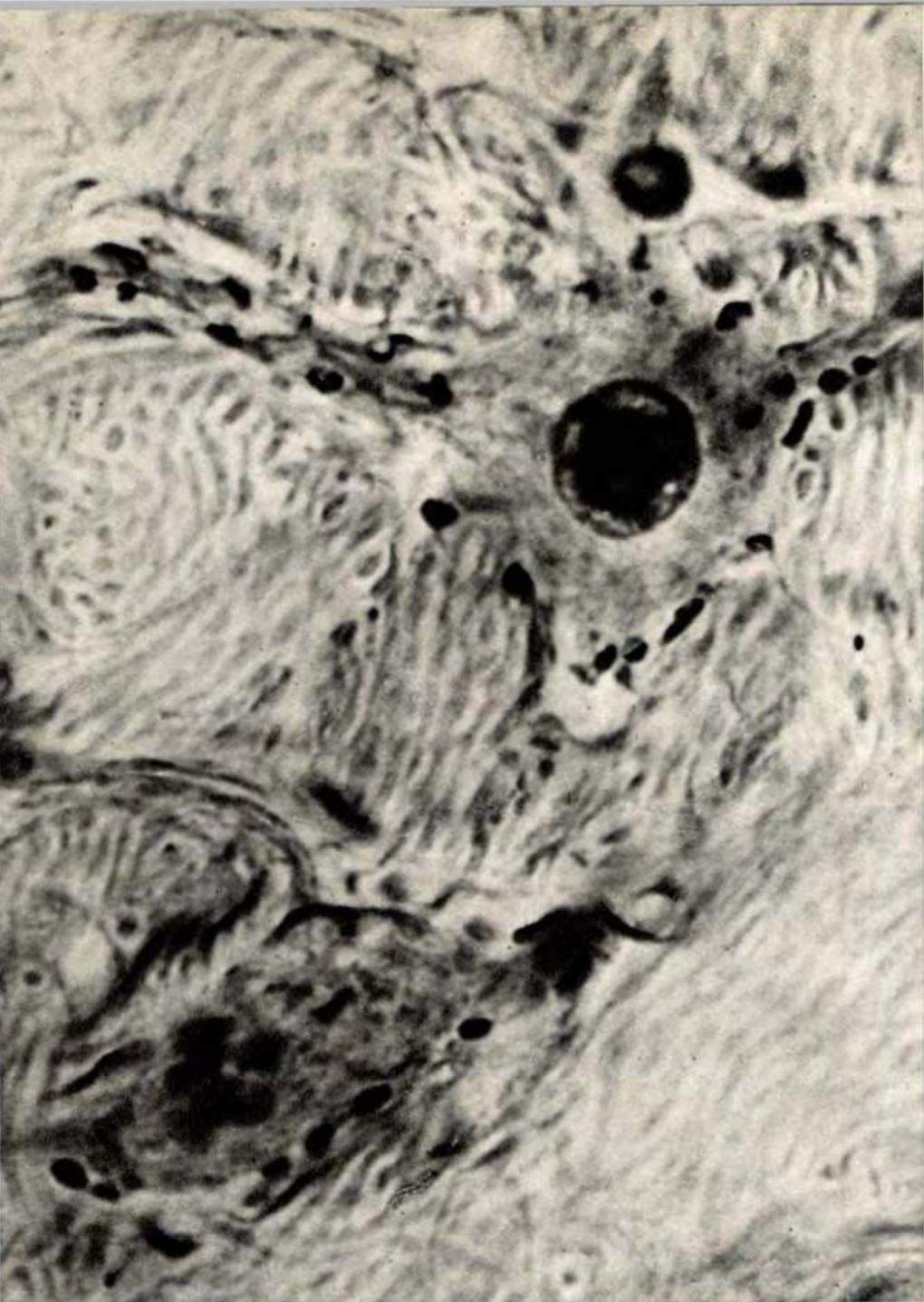
3. Formas de huso
«en passant», partiendo
de una gruesa fibra.



4. Saco presináptico,
de considerable tamaño,
salido de una bifurcación.



5. Gran botón con su fibra preterminal sobre una neurona del núcleo coclear.



6. Botones sobre soma y dendritas de neuronas cocleares ventrales.



7. Coclear ventral.
Zona de los cálices de Held.



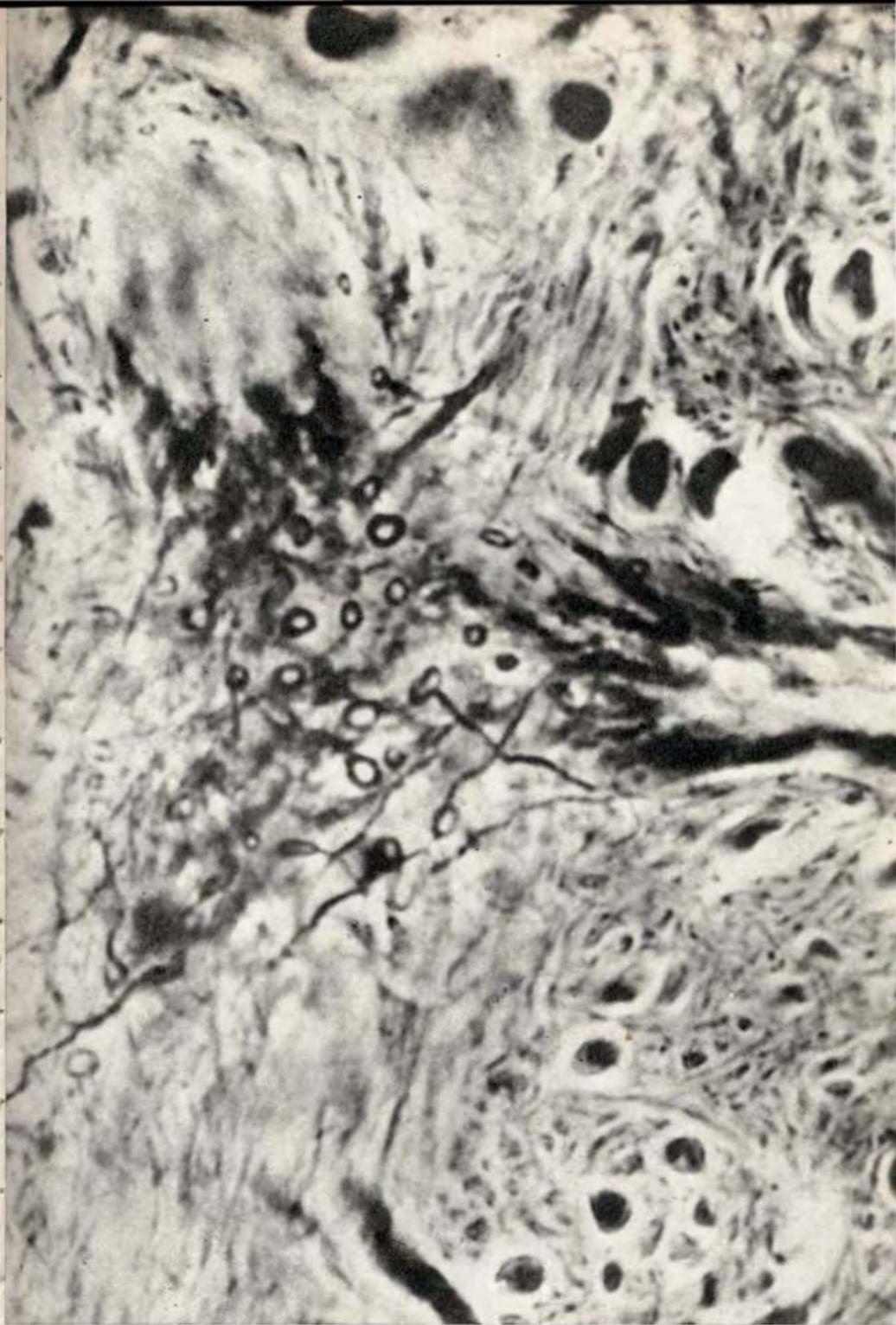
8. Cuerpo trapezoide.
Neuronas con cálices de Held.



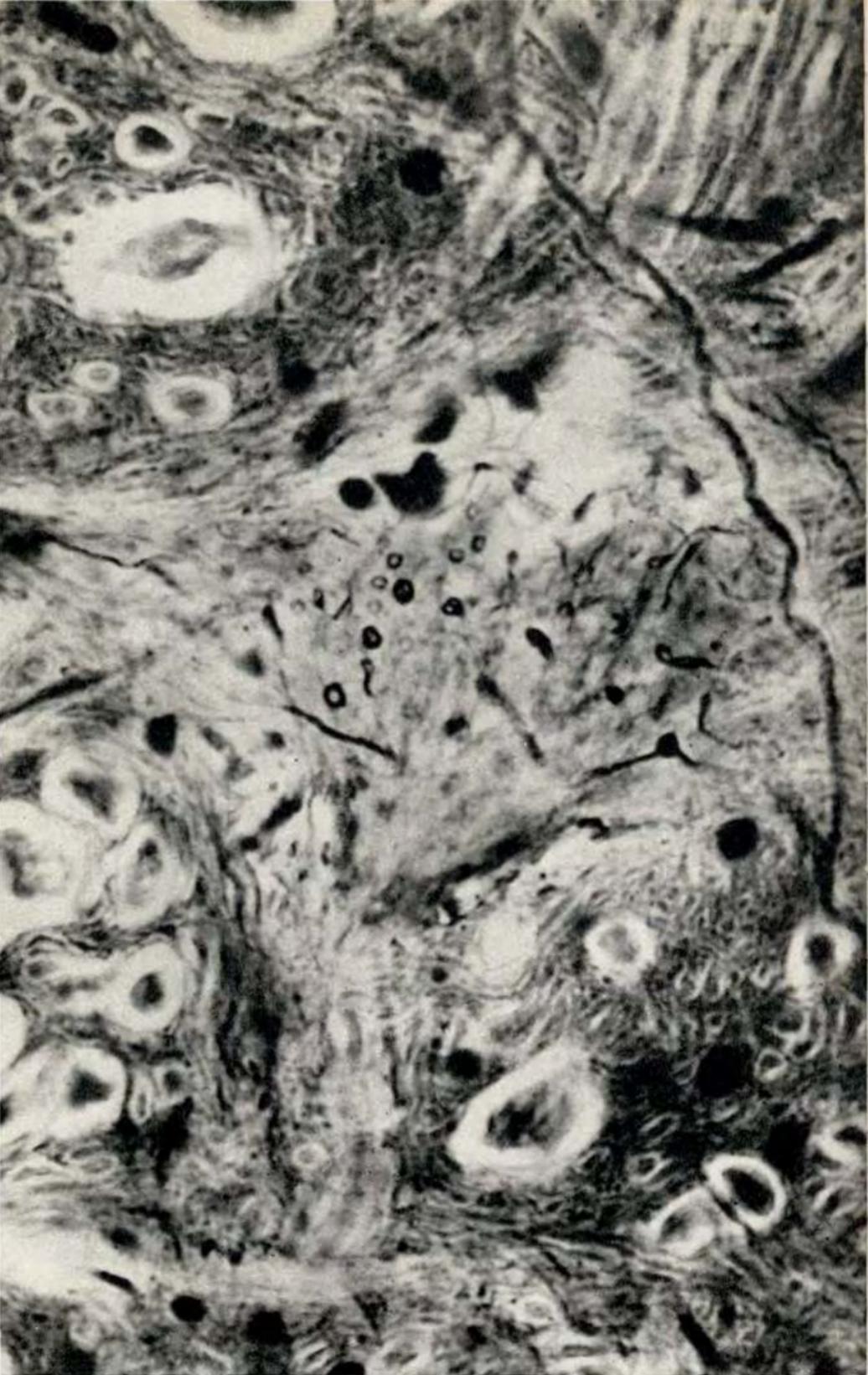
9. Núcleos preolivares.
Diversas formas de sinapsis,
en huso, maza, anillos y tortuosas.



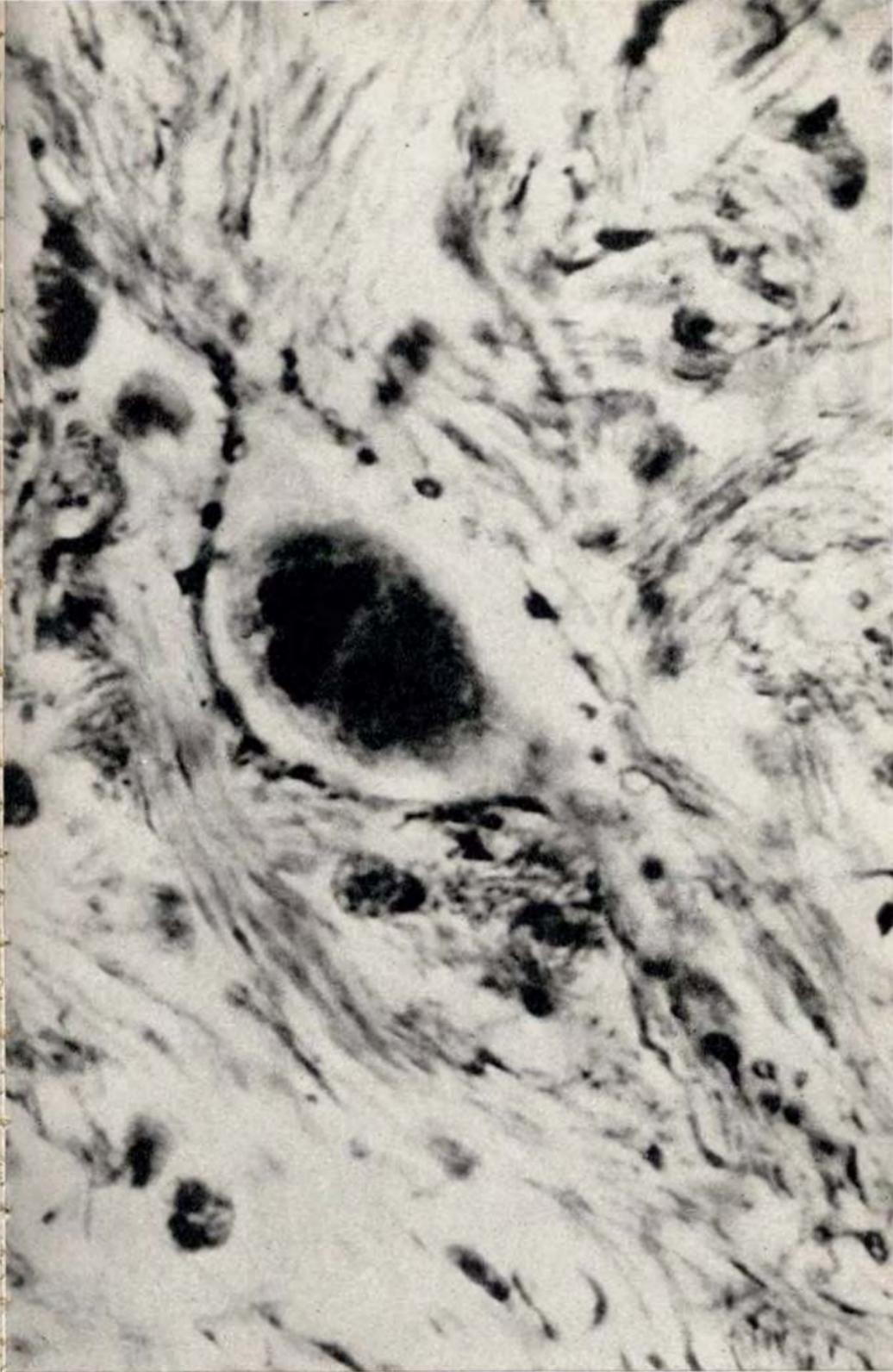
10. Oliva superior
Pequeñas formas sinápticas
sobre somas y dendritas



11. Neurona reticular mostrando gran cantidad de anillos en la superficie del pericarión.



12. Neurona reticular.
Diversas formas de anillos y fibras
sobre la superficie del pericarión.



13. Neurona reticular.
Corona de estructuras sinápticas
sobre la membrana plasmática.



14. Estrato gris superficial
del tubérculo
cuadrigémino superior.
Finas fibras, con pequeñas
dilataciones en su trayecto.



15. Genuculado medial.
Estructuras botonosas redondas
y anulares, pequeñas,
pertenecientes a la porción
inferior del núcleo.



16. Genuculado medial.
Estructuras abigarradas
con carácter terminal,
pertenecientes a la porción
superior del núcleo.



17. Genuculado lateral.
Abundantes estructuras botonosas,
pequeñas y redondeadas
o anulares.



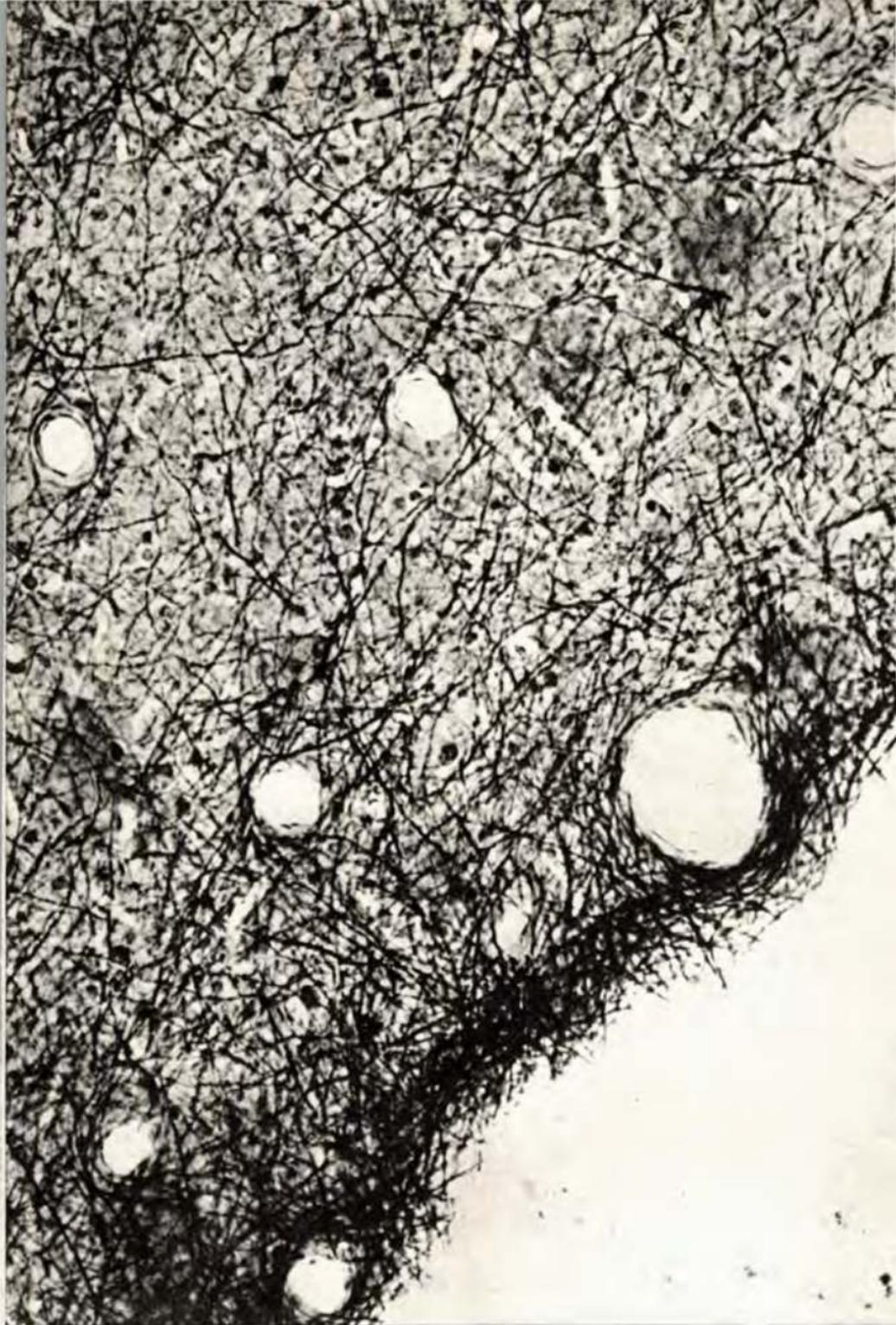
18. Pulvinar.
Detalle del núcleo mostrando
entre haces de fibras
muy numerosas estructuras
de carácter sináptico.



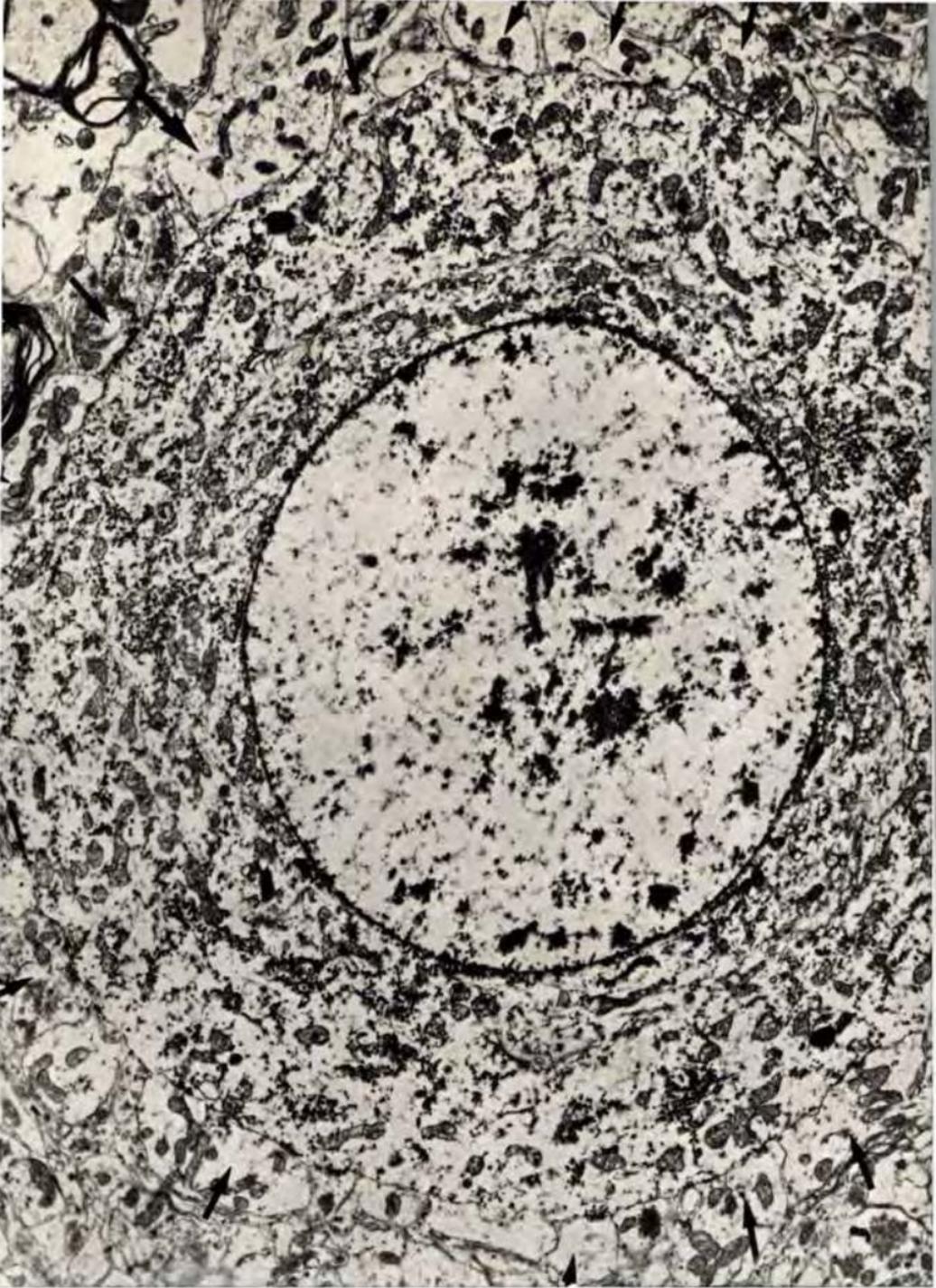
19. Núcleo posterior del tálamo, mostrando entre sus fibras las densas partículas terminales o presinápticas.



20. Núcleo ventral del tálamo.
Panorámica
de sus estructuras sinápticas.



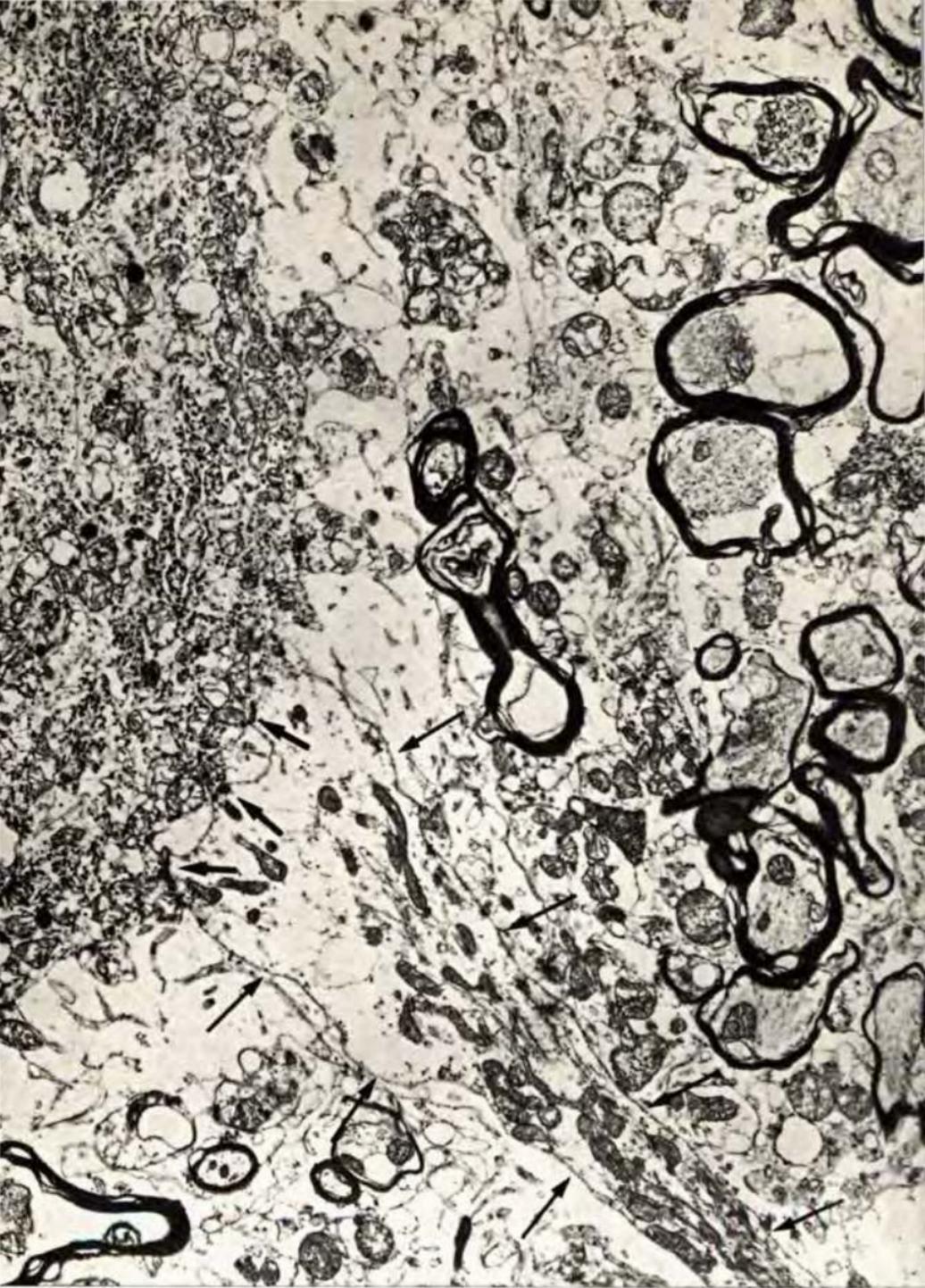
21. Sustancia gris cerebral.
Zona molecular
y capas subyacentes mostrando
una profusa trama fibrilar
con pequeñas dilataciones
en el transcurso de la misma.



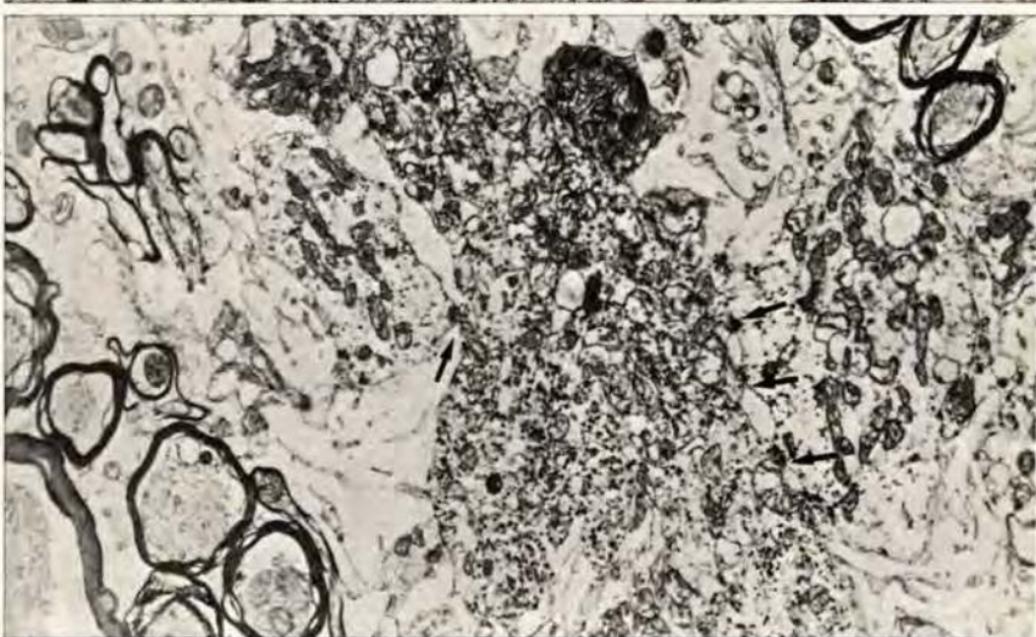
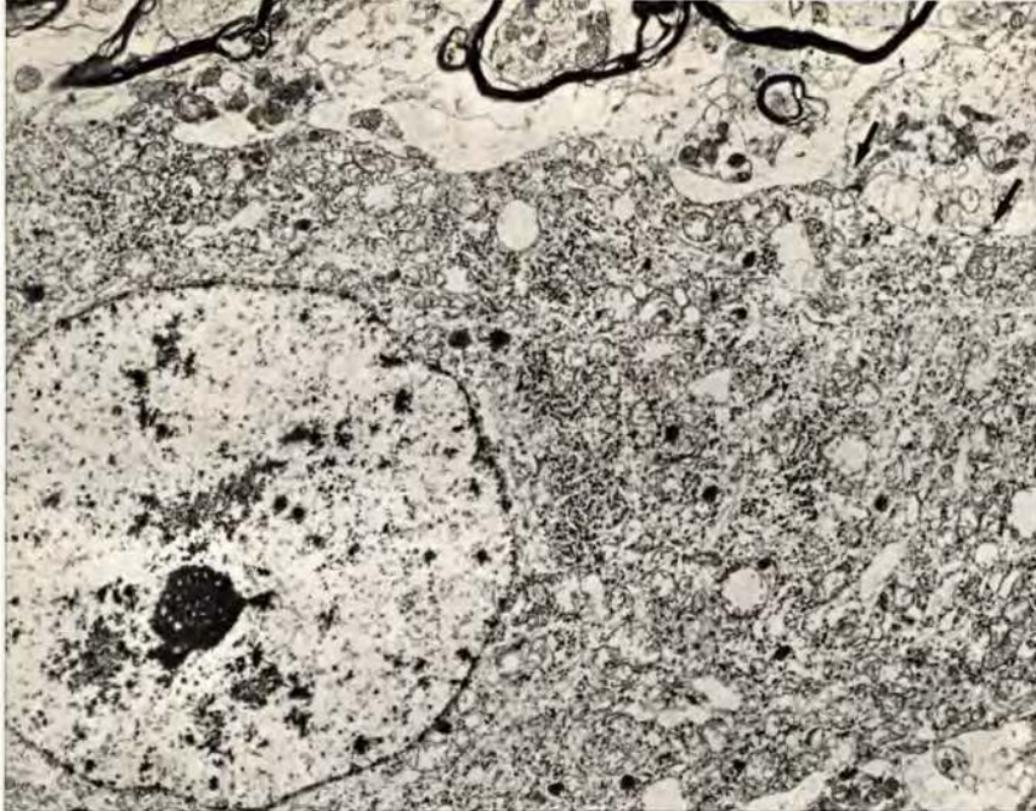
22. Núcleo ventral coclear.
Neurona rodeada de terminaciones
sinápticas, densamente adosadas
a la membrana plasmática.



23. Núcleo coclear ventral.
Neurona mostrando
en su superficie grandes
y pequeños sacos presinápticos.



24. Núcleo coclear ventral.
Gran terminación mostrando varios
puntos de contacto sináptico.



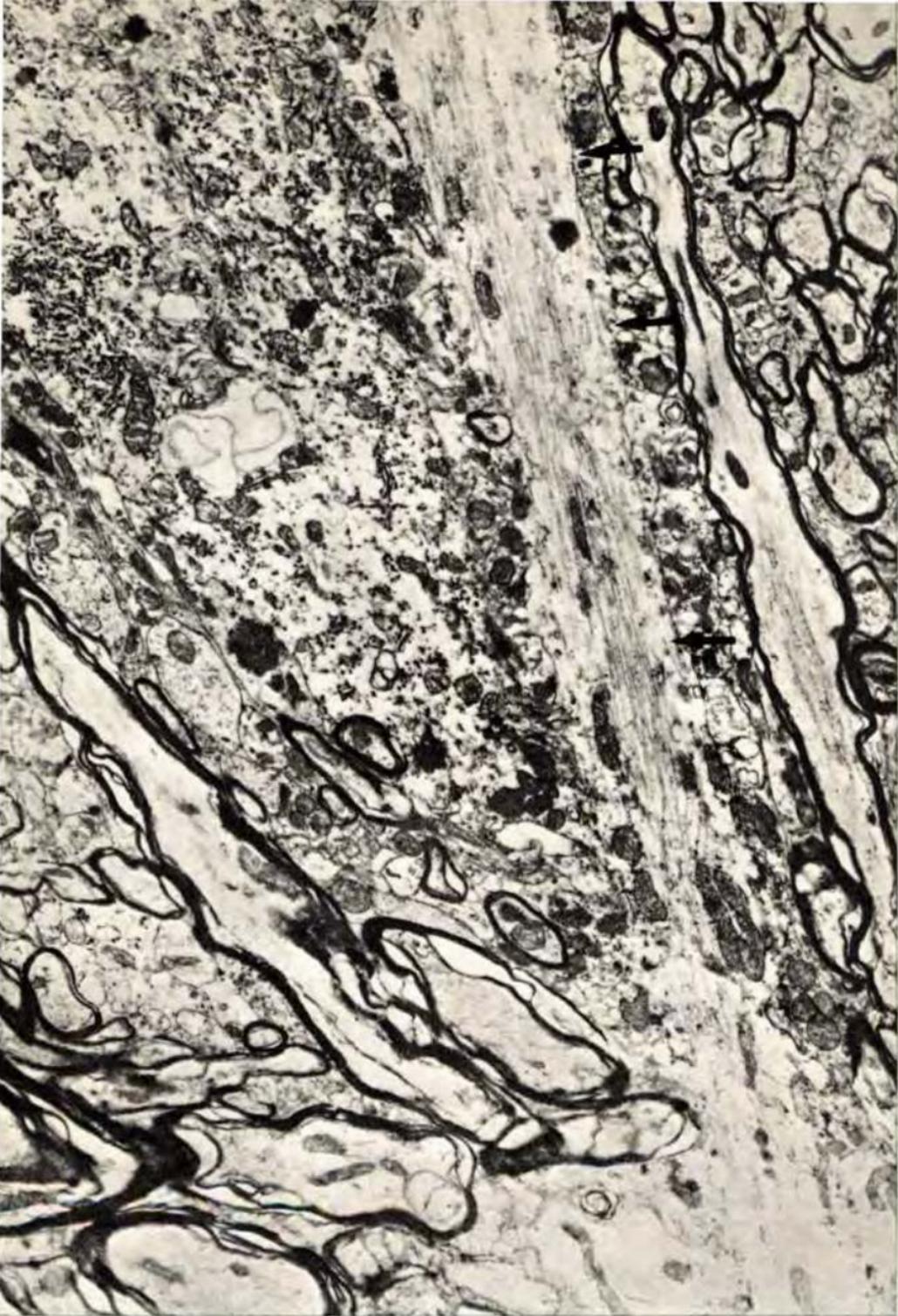
25. Núcleo coclear ventral.
Dos partes de una misma neurona
mostrando diversos tipos
de botones sobre soma
y dendritas.



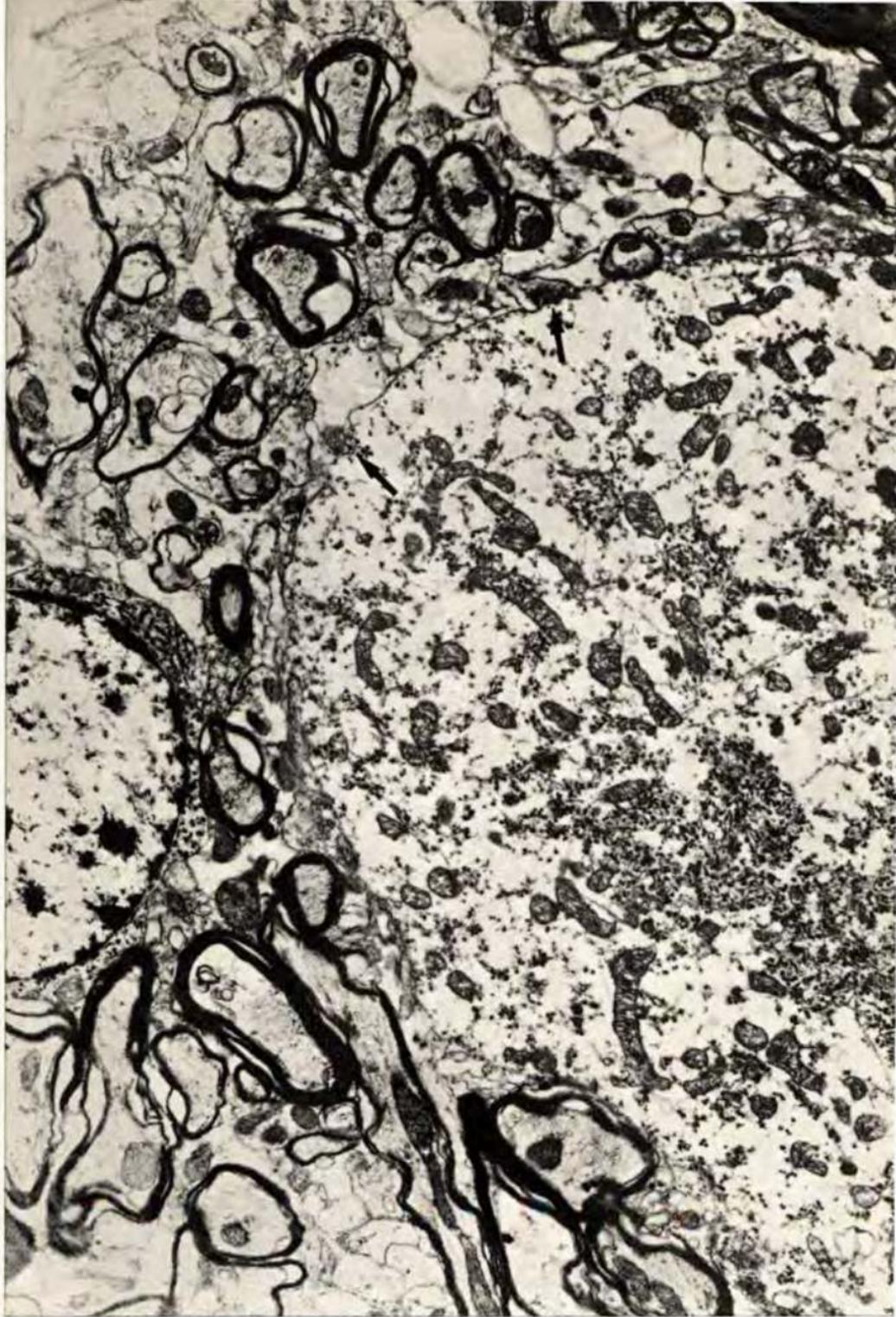
26. Núcleo coclear ventral.
Soma neuronal de la célula
rodeada por una prolongación
en forma de cáliz.



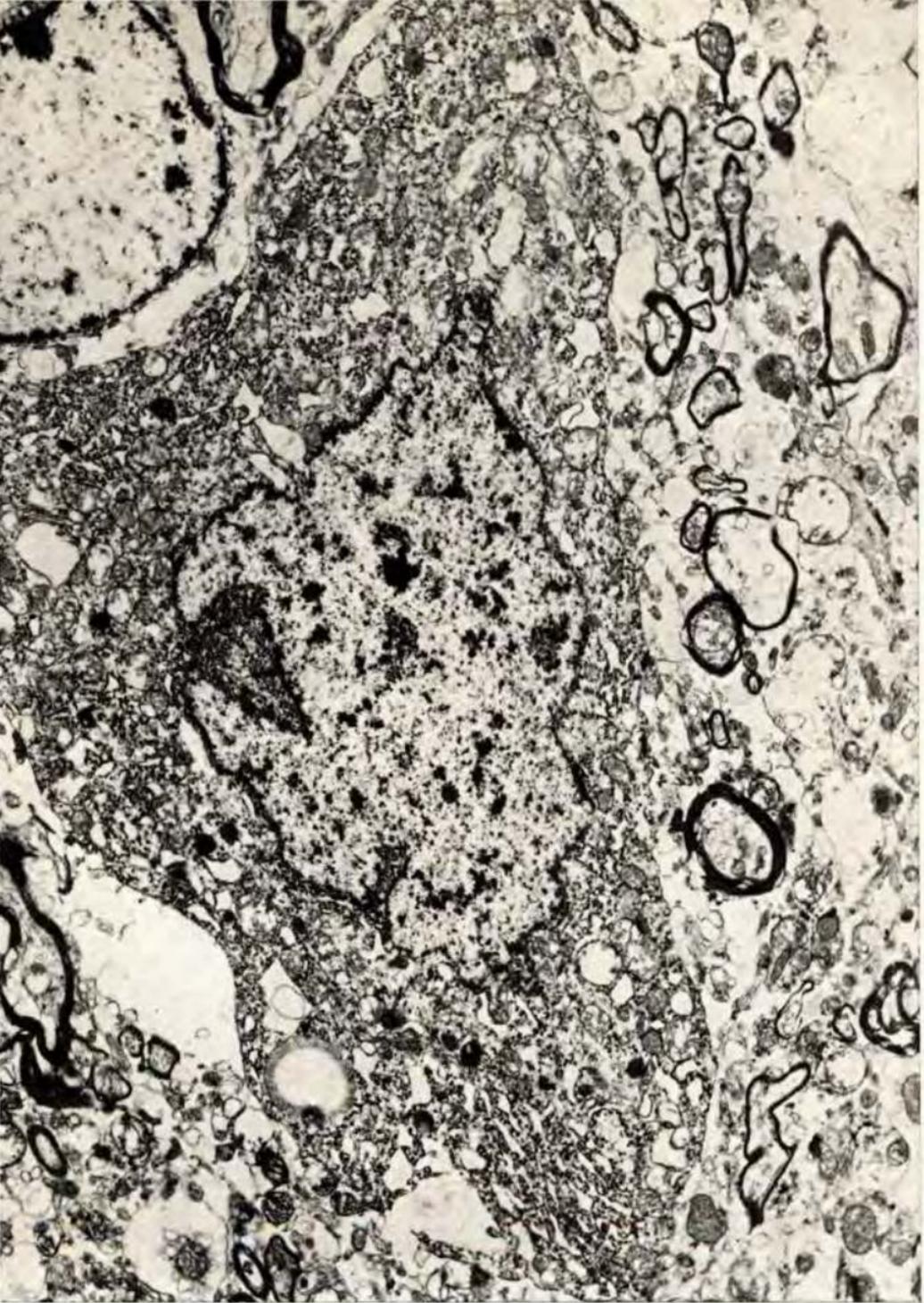
27. Cuerpo trapezoide.
Neurona junto a la cual
se ve una recta prolongación
que se adosa a su membrana;
en algunos puntos,
entre la prolongación y el soma
neuronal se interponen
pequeños botones sinápticos.



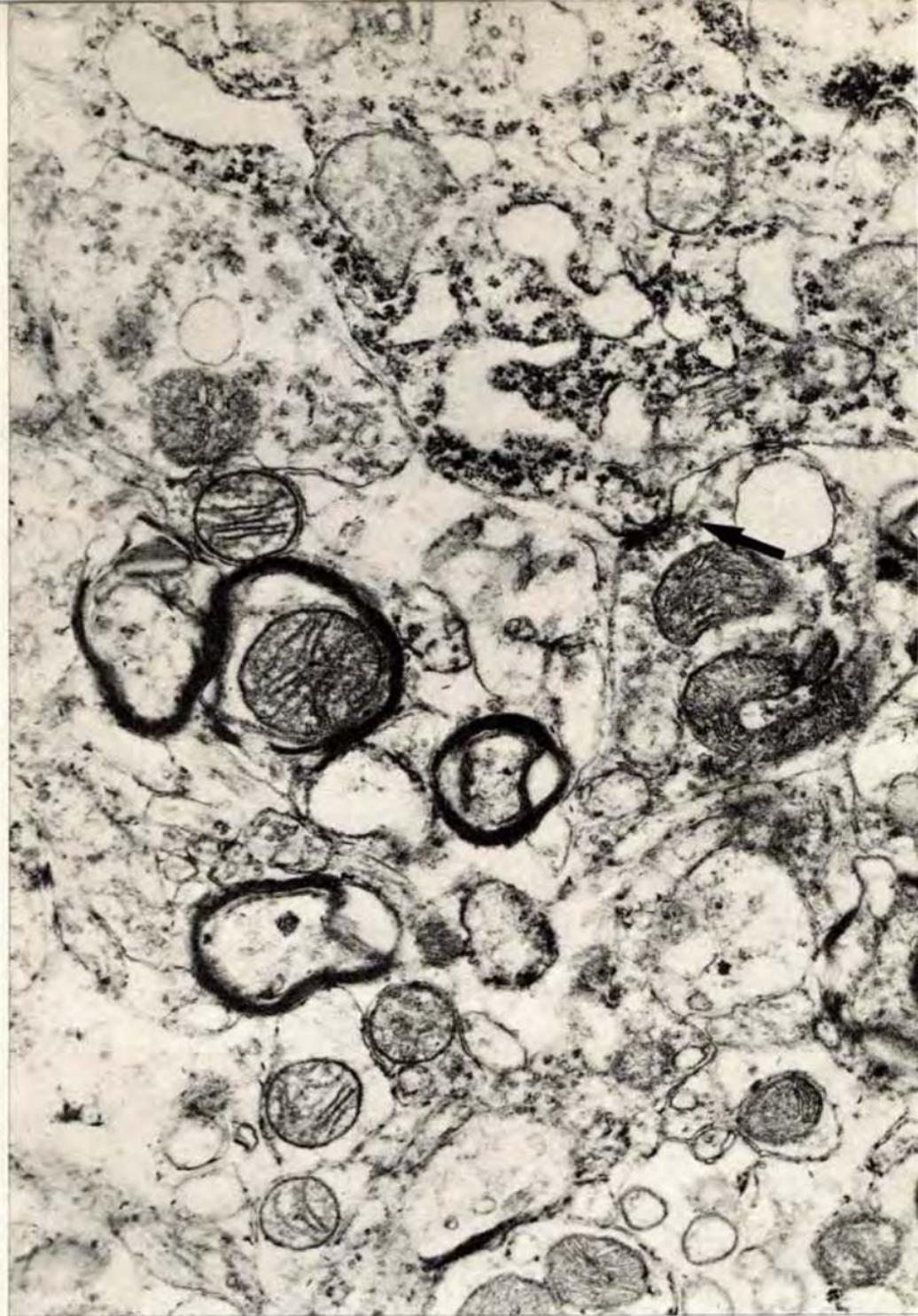
28. Cuerpo trapezoide.
Figura análoga a la anterior
mostrando la densidad
fibrilar de la prolongación.



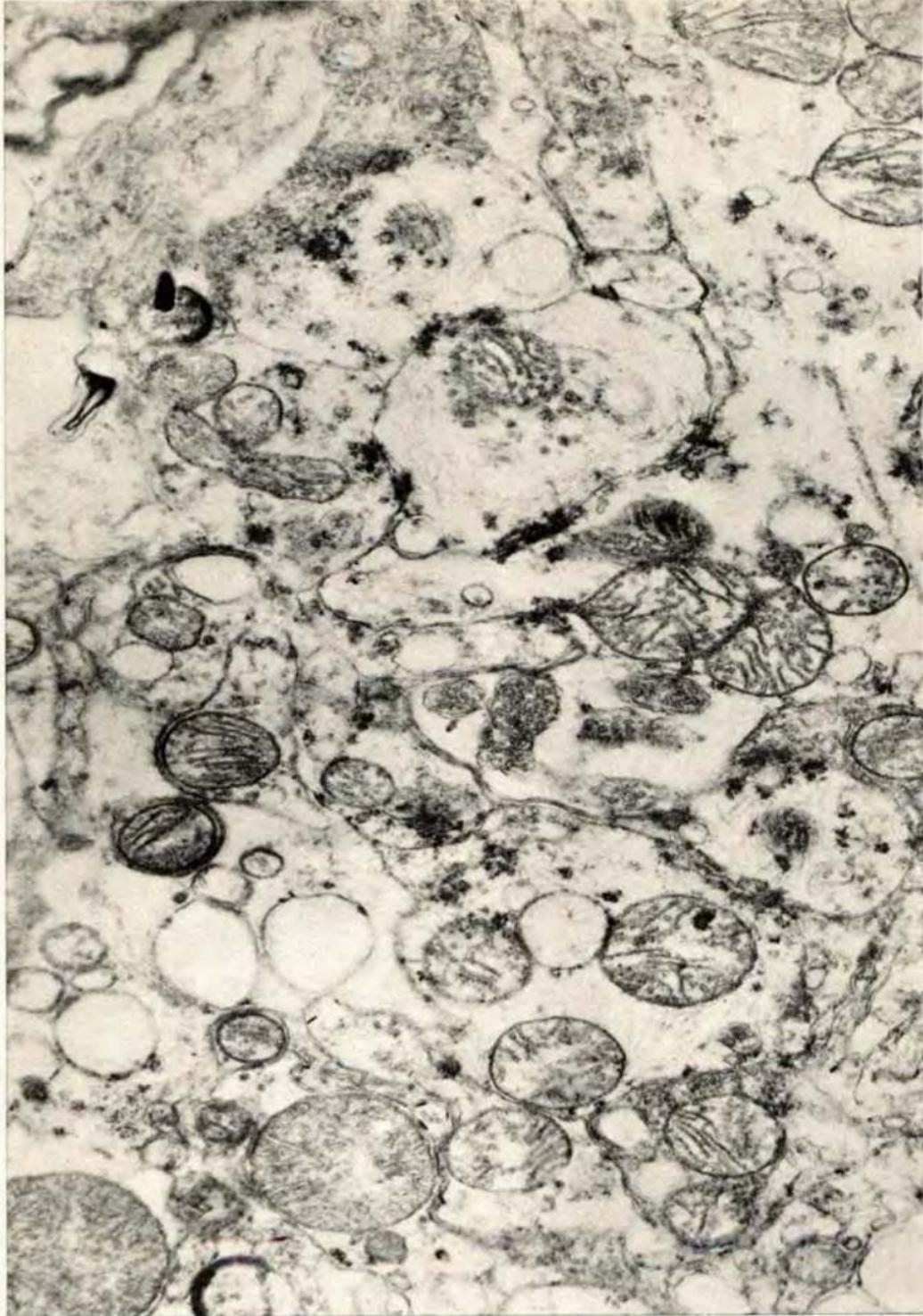
29. Oliva superior.
Neurona mostrando
en su superficie pequeñas
estructuras botonosas.



30. Tubérculo cuadrigémino.
Neurona con citoplasma denso
y escasas terminaciones sinápticas.



31. Tubérculo cuadrigémino superior.
Detalle de una neurona como la anterior, dejando ver una clara terminación con zona de actividad sináptica.



32. - Detalle de una región del neuropilo, mostrando diversas prolongaciones axónicas y dendríticas con varios contactos entre ellas.

rácter sináptico en el transcurso y a lo largo de fibras que, como en el caso de la figura, se ven estar en relación con gruesos troncos nerviosos. En ocasiones, como observamos en la figura 4, la dilatación fibrilar se presenta como porción final de una fibra que se bifurcó con anterioridad; sin embargo, el calificar estos abultamientos como terminales se ha de hacer con cautela porque, como después comentaremos, la mayor parte de ellos son formas de paso que no han dejado ver uno de los extremos fibrilares.

Las terminaciones de esta zona coclear suelen ser de considerable tamaño (como vemos en las imágenes anteriormente ofrecidas y las recogidas en la figura 5), y el cierto aislamiento en que se presentan las neuronas facilita la impregnación y la observación de las mismas.

Existe una segunda zona en el núcleo ventral coclear que se presenta como una condensación de la anterior, ya que las neuronas, tal y como recogemos en la figura 6, aparecen más cerca unas de otras. En esta zona las estructuras sinápticas se visualizan con más claridad en soma y dendritas, su tamaño es vario, algunas ofrecen un aspecto denso y otras en forma de anillo. La tercera zona estudiada del ventral coclear ofrece la imagen, recogida en la figura 7, correspondiente a terminaciones tipo cálices de Held, constituidos por gruesas y tortuosas fibras que aparecen como abrazando el soma de neuronas que muestran un citoplasma relativamente poco impregnado. Rara vez se aprecian en la superficie de estas neuronas anillos débiles y pequeños que podrían tener una significación transmisora, pero en la zona presente esta situación es tan escasa, que no vamos a entrar en su consideración.

Núcleos del cuerpo trapezoide: Las neuronas de estos núcleos están contenidas entre las fibras que, procedentes del coclear, continúan la vía acústica en dirección central; presentan, como vemos en la figura 8, unos tractos fibrosos rodeando a sus somas, que ofrecen en conjunto una imagen análoga a la observada para los cálices de Held contemplados en la región del núcleo coclear. Estas estructuras fibrilares del cuerpo trapezoide también han sido denominadas cálices de Held y se les ha atribuido un carácter sináptico. Ciertamente, son éstos los dos únicos lugares en que hemos encontrado una tal disposición de estructuras en torno a las neuronas y, aunque no está claro el auténtico carácter sináptico de las mismas, es cierto que ofrecen una imagen única y típica en estos núcleos, por lo que algún significado terminal o

preterminal deben de representar. En algún otro lugar del sistema nervioso, como en las terminaciones periféricas del órgano de Corti y en el vestibular, así como en los cestos de las células de Purkinje, apreciamos estructuras perisomáticas que, sin ser iguales a las anteriormente descritas, presentan cierta analogía de distribución. No obstante, la equiparación o no de su posible funcionamiento creemos que debe establecerse por algo más que la sola semejanza en la distribución de estas fibras perisomáticas.

En los núcleos del cuerpo trapezoide, tal y como podemos ver en las figuras aquí representadas, hemos observado, distribuidos a lo largo de las fibras que abrazan la neurona, unos cuerpos globulosos de tamaño diverso, que guardan clara relación con las neuronas de los cálices, sin que por el momento podamos decir si representan demostraciones de elementos auténticamente terminales, con significación de contacto transmisor, o si se trata de productos de degeneración. Como vemos por la descripción aquí hecha y por las figuras presentadas, en estos núcleos del cuerpo trapezoide, al igual que ocurría en la zona tercera del ventral coclear, es difícil, por no decir imposible, detectar estructuras en anillos o pequeños abultamientos, estructuras que revelen la forma general sináptica encontrada en la mayoría de las neuronas.

Núcleos preolivares: Estos pequeños núcleos celulares, situados junto al cuerpo trapezoide y en cierto sentido previos a la oliva superior, muestran en la imagen óptica estar constituidos por neuronas de tamaño mediano, sobre las que se distribuyen, densos, gruesos y variados elementos de aspecto sináptico, como los que ofrece la figura 9. Las densas formás terminales ocupan diversos planos en el espesor del corte histológico con lo que se hace difícil poder recogerlas todas en una misma fotografía. Varias de estas estructuras presinápticas están relacionadas entre sí, con lo que vendrían a representar más bien elementos de paso, que terminales. El aspecto de estas terminaciones recuerda algo a las que hemos descrito en la zona segunda del coclear ventral, si bien aquí parece observarse más variedad de tamaño y forma; las neuronas son menores de tamaño y es más difícil apreciar sus prolongaciones dendríticas.

Núcleo olivar superior: En este núcleo las neuronas se encuentran muy próximas unas de otras, sus prolongaciones dendríticas, que emergen con frecuencia de modo muy recto a partir del soma, pueden visualizarse con mayor facilidad que en otras zonas; entre las células aparecen densos y finos paquetes de fi-

bras y por todo el conjunto se distribuyen oscuros elementos en forma de pequeños anillos o bolitas, que con frecuencia se les ve en relación con una fibra preterminal. Estas formas, de pequeñas terminaciones, aparecen rodeando los somas neuronales o siguiendo los protoplasmas dendríticos. Muchos de los pequeños botoncitos o anillos muéstranse en continuidad con una fibra en sus dos extremos, por lo que los catalogamos como formas de paso; otros, sin embargo, parecen ser terminales y, dentro de la reserva que siempre se ha de tener para catalogar un elemento como terminal, parece que en esta región el número de elementos terminales (a juzgar por el aspecto de la imagen) debe de ser mayor que el observado en otras zonas. En la figura 10 ofrecemos estos aspectos que acabamos de describir.

Neuronas de la formación reticular: Es ésta una de las observaciones que queremos traer como comparación de los hallazgos obtenidos a lo largo de la vía acústica. Las neuronas de estos núcleos se parecen un tanto, por su tamaño y prolongaciones, a las neuronas motrices, tan profusamente utilizadas por la sinaptología clásica. Los elementos observados sobre las neuronas de estos núcleos se corresponden con anillos, mazas o pequeños bulbos, todos con aspecto unas veces terminal y otras de paso, y se distribuyen por soma y dendritas, como se aprecia en las figuras 11, 12 y 13. En la 11 y 12 se observan distribuciones sobre la superficie neuronal, en un corte tangencial a la misma, con lo que los respectivos núcleos neuronales han quedado fuera del corte o fuera de foco; la figura 13 ha cortado transversalmente a la neurona y entonces el núcleo celular es visible y las terminaciones se distribuyen como una corona de bulbos y anillos en la periferia. Los anillos, como se puede apreciar en estas fotografías, son de mayor tamaño que los apreciados en otras regiones; parecen relacionarse unos con otros, como se muestra en la figura 11, y otras veces muestran forma de ovillos o pequeñas trenzas, como queda recogido en la figura 12. Otras veces (tal es el caso de la figura 13, sobre todo a nivel de la prolongación dendrítica que sale de la neurona), la morfología de la sinapsis aparece como bulbos o botones densos o también como husos de paso. En conjunto, pues, apreciamos a estos niveles reticulares varias formas siempre en relación con finas fibras.

Tubérculos cuadrigéminos: Si desde los niveles anteriores pasamos a un nivel distinto y superior, como el que representan los tubérculos cuadrigéminos, observamos muy notables diferencias. De ellos sabemos que el inferior forma parte importante

de la vía acústica; sin embargo, el aspecto general de ambos tubérculos es por el estilo. Se muestran como estructuras muy densamente fibrilares, con neuronas que orientan sus dendritas en las más diversas direcciones y que muestran una apetencia para la impregnación por la plata de modo más intenso que las demás estructuras celulares de la zona. No hemos podido apreciar con el presente método anillos, bulbos, botones o husos que demostraran la existencia de estructuras sinápticas, análogas a las encontradas en otros lugares de los ya estudiados. Lo que sí se aprecia es que la zona muestra un aspecto general, semejante al que ofrece la corteza cerebral, en lo que se refiere a densidad de fibras y aspecto de los elementos celulares, y hemos podido observar (en estos y en otros preparados) que, cuando una estructura nerviosa ofrece imagen y riqueza fibrilar análoga a la corteza, los contactos sinápticos son poco menos que imposibles de detectar, sobre todo cuando esperamos encontrar en la imagen formas sinápticas diferenciadas que, como las antedichas, resaltan por su mayor impregnación argéntica y forma peculiar.

Cuando estudiábamos el núcleo coclear hablábamos de las formas correspondientes a la zona ventral y no dijimos nada relativo al aspecto que nos ofrecía otra parte importante del núcleo, que es aquella representada por la zona dorsal o tubérculo acústico. La razón es porque su estructura general se muestra análoga a la que venimos describiendo para los tubérculos cuadrigéminos y preferíamos hacer aquí la descripción, diciendo tan sólo que esta zona del tubérculo acústico, por ofrecer ese aspecto de sustancia gris como el propio de la corteza, tampoco deja ver formas sinápticas como las de la zona ventral del núcleo o las de otras regiones del romboencéfalo.

El aspecto que se observa en los tubérculos cuadrigéminos es el recogido en la figura 14, y, como podemos comprobar comparándola con las estructuras que ofrecemos sobre la corteza cerebral, ambas imágenes son distintas a las otras que anteriormente hemos estudiado.

Geniculados medial y lateral: Pasamos ahora a estudiar otras dos estructuras o núcleos que resultan ser análogos entre sí. También el uno está estrechamente ligado a la vía acústica y el otro no (geniculado lateral). Estos dos núcleos muestran, pese a recibir conexiones de elementos nerviosos situados en zonas distintas, una semejante constitución, lo cual (junto con lo observado para los tubérculos cuadrigéminos) nos hace ver que las regiones análogas del sistema nervioso central ofrecen un as-

pecto semejante en su constitución y en el modo de establecer sus contactos sinápticos, aunque el lugar de procedencia de las fibras que vienen a terminar a ellos sea tan distinto y distante como los que representan en este caso los órganos visuales y acústicos. Este hecho volveremos a comprobarlo posteriormente.

El geniculado medial: Cuando observamos un preparado de este núcleo, nos llama la atención el hecho de que toda la imagen se encuentra con un oscuro moteado de densas partículas argentófilas, que a pequeños aumentos hacen sospechar que se trate de precipitados inespecíficos; pero cuando observamos la imagen con más detalle y aumento apreciamos que esos pequeños grumos son estructuras diferenciadas en específica relación con fibras muy finas —no siempre demostrables—, y que se distribuyen constantemente por toda la región. Estos caracteres descritos nos hacen confirmar que nos encontramos ante una estructura propia de la zona, que llama la atención porque el aspecto general y el detalle son distintos al que ofrecen las fibras, estructuras sinápticas y neuronas de otras regiones. Ya a la observación con pequeños aumentos se aprecia que la parte superficial del núcleo ofrece un tipo de precipitado menor que el de las zonas un poco más profundas. Cuando empleamos mayor resolución, vemos que en la parte más superficial e inferior del núcleo las densas partículas argentófilas están formadas por pequeños grumos y anillos que se distribuyen por todas partes sin mostrar una clara preferencia de localización —situación que observamos en la figura 15—. Entre todos los elementos anteriormente descritos se aprecia una fina trama fibrilar. En la parte más superior del núcleo, como puede observarse en la figura 16, la imagen de la zona es muy parecida a la anterior, pero el tipo de grumo densamente impregnado es distinto, pues aparece de mayor tamaño y más claramente relacionado en sus extremos con alguna fibra; con frecuencia los grumos ofrecen bifurcaciones o pequeños abultamientos colaterales; en otros casos, claras formas de huso y, en algunos de ellos, se observa con facilidad cómo la estructura presenta ser la parte engrosada de una fina fibra, pudiéndose apreciar a veces con más claridad que algunas de las pequeñas estructuras, densamente impregnadas, son como trozos de fibras, algunas de las cuales harían dudar de su carácter sináptico específico diferenciado; pero observando cortes de distinta localización o dirección, se ve que siempre la imagen es igual y que tales elementos, de no ser presinapsis, podrían representar, cuando menos, partes preterminales. Con todo, son distintas a

los numerosos y claros elementos que, en forma de husos, grumos, pequeñas estructuras bifurcadas y hasta en apariencia de diminutos racimos, se distribuyen por la región.

Geniculado lateral: Aquí, como podemos ver en la figura 17, la imagen obtenida es análoga a la del geniculado medial.

Pulvinar y principales núcleos talámicos: En las figuras 18 a 20 recogemos a pequeños y grandes aumentos el aspecto que nos ofrecen estas otras regiones o núcleos talámicos. Como podemos apreciar, la imagen coincide bastante con la ya descrita para los geniculados medial y lateral; en algunas zonas se aprecia mayor densidad de elementos, pero la constitución o el tipo de estructura es el mismo para toda la región. Resulta de interés resaltar, como ya hemos hecho con anterioridad, que los diversos núcleos talámicos ofrezcan esta forma común de establecimiento de contactos de carácter sináptico, que nos lleva a la consideración de que para una misma región determinada del sistema nervioso central, el tipo, la forma o la estructura mediante la cual tiene lugar la transmisión nerviosa es bastante uniforme. Hagamos la anotación (para evitar confusiones) de que con ello no queremos decir que en algún lugar no puedan existir más de un tipo de forma terminal o «en passant», sino que en cada región observamos formas de establecimiento del contacto nervioso, que son típicas de esa región, independientemente del lugar de procedencia de las fibras correspondientes. No es menos cierto que, aunque algunas formas puedan repetirse en lugares distintos, catalogando las observaciones con un sentido amplio, cada región puede ofrecer un tipo propio que no se observa en las otras; así, los cálices de Held, las estructuras observadas a nivel de la oliva, las curiosas imágenes talámicas, los anillos de las neuronas reticulares, etc.

Corteza cerebral: En ella, y como observamos en la figura 21, no hemos podido detectar de un modo standard imágenes que pudieran representar una estructura diferenciada con carácter sináptico. La constitución que se aprecia es la de una densa trama de fibras que se entrecruzan. La textura es análoga a la que ya describimos anteriormente para los tubérculos cuadrigéminos o el tubérculo acústico, y aquí tampoco hemos podido demostrar anillos, botones o cualquier otro elemento del mismo sentido sináptico estructural, equiparable a las claras formas descritas para otras regiones. Con algunas variedades técnicas hemos podido observar a veces pequeñas densificaciones de material argentófilo, fundamentalmente en los lugares donde se entre-

crucan o hacen contacto las fibras; pero la observación no ha sido constante, el proceder no está maduro y no tenemos seguridad en la imagen, por lo que no hemos querido traer aquí como estudio un aspecto todavía problemático. Con todo, parece de interés relatar el hecho, porque la textura de la zona vendría a explicar el porqué en lugares como los de la corteza cerebral, con gran cantidad de fibras finas, multitud de entrecruzamientos con contactos y muy pequeñas densificaciones en estos puntos, el poder revelar los contactos sinápticos (máxime cuando no existen terminales de tamaño considerable) es lógico que ha de resultar extremadamente difícil (cuando no imposible) para la microscopía óptica.

OBSERVACIONES REALIZADAS CON EL MICROSCOPIO ELECTRONICO

En un estudio como el presente, que trata del aspecto morfológico de la transmisión nerviosa y en el que se intenta comparar los hallazgos obtenidos con las observaciones en microscopía óptica y electrónica, nos interesa prestar atención al tipo o forma general presináptica. Siguiendo esta intención, vamos a estudiar al microscopio electrónico la forma del saco presináptico, a los niveles del núcleo coclear, cuerpo trapezoide, oliva superior, tubérculo cuadrigénimo y tálamo.

En el núcleo coclear, dada la gran variedad de neuronas y zonas que existen en estrecha relación, cabe esperar encontrar distintos tipos neuronales a la imagen electrónica. Estas diferencias neuronales se nos manifiestan a primera vista por una distinta densidad citoplásmica, como expresión del diferente número de orgánulos que llenan el soma celular. Así, resulta distinta la densidad citoplásmica de las neuronas presentadas en la figura 22 que las que recogemos en las figuras siguientes; además, registramos otras diferencias, como son el que las células con apariencia de contener menos orgánulos muestran un citoplasma con cisternas de RE menos dilatadas, como observamos en la figura 22, si la comparamos con la 24 ó 25; también, las mitocondrias de las células más claras son de menor tamaño y suelen presentar sus crestas más compactas y numerosas; además, por todo el citoplasma se aprecian gránulos de aspecto ribosómico, con gran tendencia a formar asociaciones de carácter polisómico (que en algunos casos recuerdan a las figuras que forma el glucógeno), los cuales guardan una distribución distinta, pues mientras en las células más claras son menores en número y se distribuyen en pequeños grupos más o menos desordenadamente, en las células más densas, como, por ejemplo, la de la figura 25, aparecen muy profusamente por todo el citoplasma y orientándose con bastante regularidad en la superficie de un retículo endoplásmico que muestra un apreciable grado de dilatación.

Otra característica general que se observa con gran facilidad es que las células más claras, como las de la figura 22, suelen presentar un contorno bastante redondeado, mientras las más oscuras o densas resultan ser polimorfas. Aparte de estos tipos celulares, observamos a la imagen del microscopio electrónico tipos oligodendrogiales y astrogiales, que no son de este lugar reseñar.

Estos dos tipos celulares descritos pertenecen a la zona ventral del núcleo coclear. En ellos, y como vemos en la figura 22, sobre la membrana plasmática se distribuyen múltiples estructuras presinápticas que muestran, en uno o más puntos de su superficie, los oscuros lugares de actividad. El botón presináptico es de mediano tamaño, de aspecto más bien claro, con unas cuantas mitocondrias y algunas vesículas de unos 150 a 300 angströms de diámetro. Estas estructuras presinápticas difieren en su forma de las que encontramos en las otras neuronas de citoplasma más denso, y alrededor de las cuales los sacos presinápticos son, como podemos apreciar en las figuras 23 y 24, de mayor tamaño y más ricos en mitocondrias, o de menor tamaño y relativamente más abundantes en vesículas. Este hecho supone, por tanto, el que sobre estas segundas neuronas descubramos distintos tipos de botón, uno grande que podríamos llamar tipo 1 y otro pequeño o tipo 2. Las formas tipo 1 suelen ofrecer varios puntos densos de contacto activo, cosa más difícil de observar (como corresponde a su tamaño) en las formas tipo 2. Ambas especies de terminaciones o estructuras presinápticas aparecen frecuentemente rodeadas de expansiones gliales, que en algunos lugares de las formas tipo 1 llegan a interponerse entre la neurona receptora y los sacos efectores, con lo que la membrana presináptica forma frente a la membrana neuronal como arcos con pilares de contacto y oquedades ocupadas por la glía. Esta imagen podemos observarla, entre otros lugares, en el considerable botón de la figura 24. Las formas tipo 2 no suelen dejar ver espacios (entre ellas y las neuronas) en los que se interponga la glía. Observamos un tercer tipo de estructura efectora visible en varios puntos de las figuras 24 y 25, que se caracteriza por poseer un tamaño algo menor que las formas tipo 1, pero una densidad estructural mayor, con una constitución semejante a la del propio citoplasma neuronal, con interposición de glía entre las dos zonas y en ocasiones con bandas estrechas que relacionan dos o más dilatacio-

nes, lo que nos hace pensar en posibles formas «en passant» con sus finos puentes de unión. El tipo 1 suele ofrecer en su interior filamentos con más frecuencia y claridad que los otros tipos.

La figura 26 recoge una neurona de la zona ventral coclear (que aparece abrazada por una prolongación) de tamaño grande, amielínica y de aspecto como las bolsas presinápticas del tipo 1; la figura ofrece el aspecto de tratarse de una imagen equivalente a uno de los típicos cálices de Held; aquí, en algunos de los puntos de aproximación entre la membrana neuronal y la de la prolongación presináptica, aparecen los densos lugares de actividad; en otras partes, entre la expansión y la neurona, parece que se interponen pequeños sacos presinápticos.

Pasamos ahora a la observación de neuronas pertenecientes a los núcleos del cuerpo trapezoide, como son las recogidas en las figuras 27 y 28, y aquí, al igual que en la expansión calificada anteriormente como posible cáliz de Held, nos encontramos con expansiones que se distribuyen a lo largo de la superficie neuronal como abrazándola, contactando en lugares con ella y permitiendo en otros puntos que se interpongan pequeñas estructuras botonosas.

Igualmente pequeños son los elementos presinápticos que se distribuyen sobre la superficie de la neurona de la figura 29, perteneciente a la oliva superior; la imagen resulta en conjunto típica si comparamos la distribución presináptica con la que se obtenía de la microscopía óptica, y el tipo pequeño de botón vendría a coincidir con las pequeñas terminaciones que se observan en esta zona. Con todo, es posible que hayamos tomado una neurona de una parte no muy central en la oliva, más bien de su zona limitante, y por ello la figura ofrezca dificultades para una observación totalmente clara.

En cuanto a las imágenes pertenecientes al tubérculo cuadrigémino, volvemos a observar densidad en sus neuronas, con escasez de estructuras de carácter sináptico en torno a los somas celulares y una buena cantidad de elementos fibrilares y gliales en el conjunto.

Por último, las observaciones realizadas en los elementos celulares talámicos nos ofrecen una estructura típica de neuronas con pequeñas o escasas terminaciones en su superficie, pero rodeadas de un denso neuropilo, en el que se observan diversos elementos de índole protoplásmica y fibrilar, con muy numerosos contactos entre todos ellos, y que recuerdan a los tipos encontra-

dos en la microscopía óptica. El número de fibras miélicas es aquí muy escaso, siendo ésta una circunstancia que también concuerda con las imágenes encontradas a la observación fotónica. Estas características que acabamos de describir podemos observarlas en las figuras 30 a 32.

COMENTARIO

En la obtención de imágenes demostrativas del saco presináptico con las técnicas de impregnación argéntica resulta fundamental, como ya han demostrado otros autores, la buena preparación del tejido (Bodian, 1938; Ha, 1966; Hinojosa y Robertson, 1967, etc.). En cualquier técnica histológica ya se sabe que es fundamental la buena preparación tisular; pero en el caso de terminaciones nerviosas, tanto si la observación va a ser con microscopía óptica como si lo va a ser con la electrónica, la estructura es tan delicada y tan hábil para sufrir alteraciones que de la buena conservación del tejido depende una especie de «todo o nada» en la utilidad de las imágenes obtenidas. La fijación es conveniente que se haga lo más rápidamente posible, sin producir retracciones, sin extraer o alterar los elementos propios del saco presináptico y respetando en lo posible una impregnación tanto de los elementos fibrilares como de los neuroplásmicos. En este último sentido es donde se encuentra la mayor dificultad porque, como ya sabemos, los métodos de impregnación argéntica suelen ser fibrilares o protoplásmicos, pero resulta difícil conjugar las dos cualidades. Nuestro método cuenta con dificultades como tantos otros, pero tal vez ofrece esa ventaja de conjugar, hasta un cierto grado aceptable, aptencias de impregnación tanto neurofibrilares como protoplásmicas. Creemos que el beneficio protoplásmico se obtiene gracias al glutaraldehído y al tartrato, y los beneficios fibrilares, gracias al glutaraldehído y al cromo. La mezcla por nosotros utilizada actúa como mordiente, preparando el tejido para la ulterior impregnación por la solución argéntica. Con este método se impregnan, como puede observarse en las distintas figuras, tanto fibras mielínicas como amielínicas, tanto somas neuronales como dendritas o axones. Todo ello facilita el que, en aquellos lugares en que las neuronas son de tamaño considerable y se encuentran separadas por considerable cantidad de fibras mielínicas, resulten relativamente aisladas, con un escaso neuropilo y en condiciones de permitirnos,

por tanto, observar sobre ellas con más claridad los botones sinápticos; tal situación es la que ofrecen generalmente las neuronas mesencefálicas y romboencefálicas y, si a ello añadimos el que en estos niveles los botones sinápticos suelen ser de mayor tamaño y rodeando en un porcentaje elevado la superficie somática y dendrítica, comprenderemos el porqué en estas zonas los hemos podido demostrar más fácilmente. Estas consideraciones que venimos haciendo son precisamente las que determinan la dificultad que encontramos para detectar las mismas estructuras a nivel de la sustancia gris cerebral y de aquellos otros lugares, como el tubérculo acústico o los tubérculos cuadrigéminos, en los que el número de fibras mielínicas es más escaso, los contactos sinápticos son más frecuentes entre las prolongaciones celulares, que con el soma neuronal, y los engrosamientos correspondientes al botón sináptico, son de pequeño tamaño; este último hecho ya fue comentado por de Robertis en 1963, al decir que la sinapsis en la corteza cerebral, por tener unas dimensiones medias de 0,5 micras, no puede verse en microscopía óptica y con las impregnaciones argénticas. Con todo, y como puede apreciarse en alguna de las figuras aquí presentadas, sobre fibras en corteza cerebral, vemos a lo largo de las mismas pequeñas dilataciones que podrían representar los lugares de contacto, por lo que no podemos negar si modificaciones del método podrían terminar proporcionándonos la demostración de estructuras sinápticas a nivel de corteza y a la observación óptica.

Armstrong y colaboradores (1956) creen que con su método tiñen mitocondrias; Rasmussen (1957) afirma que el suyo no tiñe fibras, pero sí casi todas las terminaciones, con lo que se deduce que su método ha de ser protoplásmico. Nuestro método tendría que ser, como ya hemos dicho, en parte fibrilar y en parte protoplásmico; el hecho de que se impregnen, junto con los demás elementos del tejido, los somas y dendritas neuronales, habla de una apetencia tanto por las fibrillas y mielina como por los demás elementos citoplásmicos del pericarión.

Como dijimos al describir la técnica, el tiempo óptimo para poner de manifiesto las estructuras sinápticas es en nuestro caso de alrededor de una semana después de iniciada la fijación, pues la degeneración y disminución del número de estructuras demostrables, como también han observado, entre otros, Majorow (1960) y Boyott y colaboradores (1961), hacen que poco a poco la imagen vaya resultando menos específica o clara.

Microscopía óptica: Las imágenes obtenidas por nosotros no

difieren en forma global de las descritas por otros autores como Bodian (1938), Barr (1939), Knoche (1961), Harrinson y Warr (1962), etc. De ello se deduce que nuestras estructuras se corresponden con las que a lo largo de la literatura se han venido catalogando como los elementos efectores del sistema nervioso. En nuestro caso, lo que sí observamos es mayor número y claridad en las imágenes, que las que corrientemente se obtienen con otros métodos. El número de fibrillas no es tan abundante y nítido como el que se puede conseguir con un Bielschowski, pero los botones se muestran con más facilidad de impregnación y menos enmascarados por las fibras. Respecto al número de terminaciones demostradas, creemos que si bien son abundantes, tal vez en algunos casos no serían todas las existentes en el corte. Armstrong y colaboradores (1956) las ven en su trabajo por toda la superficie celular; Rasmussen (1957), llenándola completamente, y de Robertis (1963), tras la observación electrónica, opina que una pirámide de la corteza puede tener hasta 10.000 contactos. Es cierto que nosotros también hemos observado que los botones ocupan gran parte de la superficie celular, pero ello varía en nuestras imágenes de unas neuronas a otras, según el corte sea tangencial a la superficie somática o que corte transversalmente la neurona; en el primer caso se ven sobre ella; en el segundo, formando corona alrededor de la membrana plasmática. Pero además creemos que el número varía de unas neuronas a otras, por el hecho de que neuronas pertenecientes a una misma región suelen ofrecer la misma frecuencia o facilidad para dejar demostrar sobre ellas los elementos efectores, mientras en neuronas de otros lugares suelen escasear más. Ello, como comentaremos posteriormente, puede apreciarse también en la observación electrónica. Por todo ello creemos que si autores como Majorow (1960) encuentran dos tercios de la superficie celular cubiertos por los efectores terminales en material vivo y un tercio tras las alteraciones cadavéricas, y otros como Illos (1964) creen que la superficie cubierta viene a ser de un 50 a un 70 por 100 de la superficie neuronal y dendrítica, son cifras que varían de unas neuronas a otras y valen para tal o cual determinado estudio, pero no con carácter general.

En cuanto a los tipos o formas que a la observación óptica nos ofrece la imagen del saco presináptico, vemos que existe una notable variedad. Según Mc Lennan (1963), se deben a Cajal los 11 tipos descritos de formas axodentríticas y axosomáticas. Cajal (1933), en su maravillosa obra *¿Neuronismo o reticu-*

larismo?, nos hace una detallada descripción de los diversos tipos de estructura sináptica por él observados y ciertamente pueden contabilizarse numerosas formas. Si atendemos a cada una de las pequeñas variaciones que pueden presentarse, podemos llegar a contabilizar como Blackstad y colaboradores (1961) hasta 27 tipos diferentes; pero en la clasificación de tipos o formas sinápticas, el mejor criterio sería tal vez, siguiendo a Cajal, hacer una clasificación amplia, fijándose más en la forma especial de establecerse el contacto y en la posible significación fisiológica, que en las caprichosas variaciones de contorno que pueden observarse en tal o cual conjunto. Existen, pues, variedades, pero basadas en diferencias significativas de región y de posible función, más que en la pequeña diferencia de contorno que pueda ofrecernos tal o cual botón. En esta forma de pensar coincidimos con Kirsche (1954), cuando, comentando a Jabonero (1953), señala con él el indeterminismo morfológico que existe sobre la formación sináptica (aunque el comentario de éstos se refiera al sistema nervioso periférico).

En nuestros preparados encontramos terminaciones o contactos axosomáticos y axodendríticos, como se puede observar en las figuras presentadas; contactos axoaxónicos resulta muy difícil de poder asegurar. Los botones se muestran como estructuras con aspecto terminal o «en passant»; en este último caso, el saco presináptico aparece más claramente como un engrosamiento en el trayecto de una fibra y suele mostrar forma de huso. Lógicamente, aunque las imágenes de impregnación puedan representar lo contrario, el número de botones terminales ha de ser mucho menor que el de formas de transición o de paso. Lo que puede ocurrir es que, por defecto de impregnación o de fijación, dado lo delicado de las técnicas, las finas fibras que conectan dos o más husos o engrosamientos no se hayan teñido, y entonces, falsamente, consideremos como terminales estructuras que en realidad no lo son. Cuando la imagen es suficientemente buena, lo cual no quiere decir que no ofrezca ciertas dificultades para poder ser fotografiada, observamos cómo el numeroso cúmulo de engrosamientos presinápticos aparecen enredados con fibras que dan un aspecto reticular terminal, sin que queramos darle a la palabra ningún sentido funcional o de total continuidad. Es también de reseñar que los anillos presinápticos ofrecen una forma regular que muestra ser más terminal o desligada de continuación que de paso, por lo que, si bien creemos que estas estructuras corresponden realmente a formas de sinapsis,

puede ser, sin embargo, que se trate de elementos en posible vía de degeneración y, por ello, se muestren frecuentemente como terminales. Por nuestras observaciones, el que una estructura aparezca como anillo, como botón denso o como huso, no nos ofrece ninguna diferencia tipológica, y, salvo que en el futuro pudiera asignárseles alguna diversidad funcional, creemos que se trata de variaciones de presentación de elementos cuando menos análogos, posiblemente iguales. Otra significación puede tener el tamaño, pues ciertamente las diferencias a veces observadas son tan llamativas, que tal diversidad bien pudiera tener una significación funcional. Podría pensarse que diversidad en la situación del corte histológico determinara variaciones en la presentación del tamaño de una misma estructura, pero cuando decimos variación del tamaño no nos referimos a comparar dos y únicamente dos determinadas formas presinápticas, sino a la variación general que ofrece el tamaño de estas terminaciones, de unas regiones a otras o en neuronas o formas especiales dentro de una misma región; dicho de otro modo, nos referimos a variaciones de tamaño establecidas de modo suficiente o estadístico. Por último, juzgamos como diferencia, aunque sea sólo estructural, pero digna de ser tenida en cuenta, la variedad que ofrecen los elementos efectores, si es de manera constante, en las distintas regiones del sistema nervioso central. Así, son muy distintos desde un punto de vista global los tipos observados en el núcleo coclear que los que terminan en la oliva, las formas observadas en los núcleos preolivares o las numerosas y libres estructuras que nos muestran las distintas regiones talámicas.

Microscopía electrónica: Con la observación electrónica hemos podido comprobar todas o casi todas nuestras observaciones, que ya hemos relatado en la microscopía óptica. Ello resulta un apoyo para el juicio sobre la nobleza de la técnica de impregnación argéntica y al mismo tiempo una coincidencia que apoya y amplía (en tanto en cuanto sean equiparables ambos procederes) las observaciones y argumentos que se expongan.

A la microscopía electrónica, tal y como ya han apuntado numerosos autores (Colonnier y Guillery, 1964; Bogolepov, 1966; Westrum, 1966), pueden observarse en principio formas axodendríticas, axosomáticas y axoaxónicas. Algunos, como Elfvin (1963), han encontrado en ganglios contactos dendrosomáticos y dendrodendríticos; estas formas tal vez sean más comunes de lo que se cree, pero pasan desapercibidas, por la dificultad que muchas veces ofrece la identificación o diferenciación entre

una dendrita en su zona distal y un axón. En nuestras imágenes se observan fundamentalmente formas axosomáticas y axodendríticas, y en algunas figuras, como las correspondientes a las observaciones realizadas en el tálamo, parecen observarse contactos entre prolongaciones de tipo vario, axónico y dendrítico, escaseando más las axosomáticas.

Como ya dijimos al describir las observaciones, hemos encontrado variaciones de tamaño y constitución, que algún significado deberán tener, como ya apuntamos anteriormente al hablar de las observaciones ópticas. Recordemos que veíamos un tipo 1, grande y no muy denso; un tipo 2, pequeño, denso y cargado de vesículas, y un tipo intermedio 3, denso, irregular y de aspecto parecido al citoplasma de la neurona. Esta diversidad de tamaño y constitución, especialmente reseñada por nosotros para el núcleo coclear, ha sido reseñada por otros autores en otros lugares, Colonnier y Guillery (1964), en geniculado lateral; Majorossy y colaboradores (1964), en pulvinar. El hecho coincide con lo descrito para los preparados estudiados mediante la impregnación argéntica. Además, y como observábamos en las figuras que mostraban los cálices de Held (a nivel del núcleo central coclear o del cuerpo trapezoide), podemos ver la semejanza entre la observación óptica y la electrónica, cuando apreciamos en las figuras correspondientes a esta última los grandes y claros tractos que corren por la superficie o casi la superficie neuronal y, en algún caso, demuestran hasta abrazarla.

También las diferencias generales observadas en la microscopía óptica se hacen patentes a la imagen electrónica. Así vemos cómo, de las distintas zonas estudiadas, las formas mayores de sacos presinápticos corresponden a las que encontramos a nivel de la zona ventral del núcleo coclear y precisamente entre neuronas que se encuentran rodeadas por numerosas fibras mielínicas (mucho más patentes en los preparados que en el reducido espacio de cada figura). Indudablemente, estas grandes formas sinápticas no siempre son cortadas en los finos cortes del ultramicrotomo en su sección longitudinal, y por ello muchas de las veces las sorprendemos en cortes transversales; el tamaño transversal se revela lógicamente como menor, pero la constitución interior nos revela la semejanza. Estos grandes efectores muestran varios puntos de actividad o densificaciones de la membrana y suelen dejar muy poco espacio libre entre ellas y la membrana plasmática neuronal; la situación se presenta al revés que como ocurre con las formas que hemos descrito del tipo 3, que también

hacen varios contactos con diversas densificaciones, pero que dejan con frecuencia espacios entre las dos membranas sinápticas, o puentes entre los que se interponen elementos gliales, como ya en otros casos habían reseñado Weber (1952), de Robertis (1963), etc. En ningún caso, y como ya apuntaron Causey y Hoffmann (1956), hay interposición de glía en el lugar del contacto.

En las zonas de los cálices de Held no observábamos estructuras botonosas sobre las neuronas, y aquí, a la imagen electrónica, vemos, al examinar las figuras correspondientes, que los botones o sacos presinápticos son muy pequeños cuando existen y se encuentran por debajo de los grandes tractos del cáliz. En otras zonas, en que también nos era difícil demostrar con la impregnación argéntica estructuras sinápticas, como en los tubérculos cuadrigéminos, también encontramos dentro de un menor número de contactos axosomáticos formas de menor tamaño, hecho que coincide con algunas observaciones de otros autores como Artyukhina (1966), Kurtz (1964), etc. En ocasiones podemos, sobre todo a nivel de los tubérculos cuadrigéminos, observar botones de mayor tamaño; este hecho no debe extrañarnos porque, como ya dijimos en los tubérculos cuadrigéminos, se aprecian a la imagen óptica estructuras sobre los somas neuronales que podrían representar efectores sinápticos y que deben de existir, pero que, dada la gran cantidad de fibras de esta región, quedan veladas o dificultadas para una clara visión al microscopio electrónico (aparte se ha de tener en cuenta la posibilidad de que, por cualquier otra razón técnica, no hayamos podido demostrar terminaciones en esta región).

Por último, y en las observaciones realizadas a nivel del tálamo, hemos podido igualmente comprobar que el número de contactos es más abundante entre axones y dendritas que sobre somas neuronales y que, como Colonnier y Guillery (1964) encontraron en geniculado lateral y Majorossy (1966) en pulvinar, hay diversas formas de efectores grandes y pequeños, y que, como Majorossy vio en pulvinar y nosotros hemos recogido en nuestra figura 32, hay formas dendríticas que hacen contacto simultáneo con otras varias estructuras, y a su vez éstas pueden mostrar contactos con otros elementos vecinos. Igualmente apreciamos cómo los distintos elementos efectores y receptores de esta región muéstranse de un tamaño y tortuosidad que recuerda los densamente impregnados elementos de las imágenes del óptico, en un denso neuropilo con relativamente poca abundancia de neuronas.

RESUMEN

En el presente trabajo se ha realizado un estudio de las estructuras sinápticas en los distintos niveles romboencefálicos, mesencefálicos, diencefálicos y telencefálicos del gato. Para ello se ha empleado la técnica del «glutaraldehído, tartratocromo, nitrato de plata» para las observaciones que se han realizado con microscopía óptica, y las técnicas generales de fijación e inclusión para las observaciones que hemos realizado en microscopía electrónica. Se ha utilizado como elemento de observación la vía acústica; realizándose a lo largo de ella y en sus diversas zonas de relevo los estudios de los elementos neuronales y botones presinápticos, habiéndose estudiado simultáneamente, cuando se ha creído oportuno, otras regiones del sistema nervioso central que pudieran resultar de utilidad.

Los hallazgos encontrados con los dos tipos de observaciones, las hechas con el microscopio óptico y el electrónico, son equiparables y pueden resumirse como la observación de distintos tipos sinápticos en las distintas zonas o regiones estudiadas; diversidad de tamaño de los sacos presinápticos; variaciones en su manera de contactar con las distintas neuronas y asiduidad del tipo dentro de cada región. Otros detalles de interés y particularidades sobre el tema son reseñados en las observaciones y comentarios que sobre el mismo se hacen en sus apartados correspondientes dentro de este trabajo.

BIBLIOGRAFIA

- Armstrong, J., K. C. Richardson y J. Z. Young: *Staining neural end feet and mitochondria after postchroming and carbowax embedding*. «Stain Techn.», 31: 263, 1956.
- Artyukhina, N. I.: *Structure of synapses in rat motor cortex*. «Fed. Proc.» (Transl. Supl.), 25: 559-64, 1966.
- Barr, M. L.: *Some observations on the morphology of the synapse in the cat spinal cord*. «J. Anat.», 74: 1, 1939.
- Blackstad, Th. W., y A. Kjaerheim: *Spacial Axo-Dendritic Synapses in the Hippocampal Cortex: Electron and Light Microscopic Studies on the Layer of Mossy Fibers*. «J. Comp. Neurol.», 117: 133-159, 1961.
- Bodian, D.: *The Structure of the vertebrate Synapse, etc.* «J. Comp. Neurol.», 68: 117-159, 1938.
- Bogolepov, N. N.: *Structure of synapses in brain-stem reticular formation*. «Fed. Proc.», 25: 919-23, 1966.
- Boycott, B. B., E. G. Gray y R. W. Guillery: *Synaptic structure and its alteration with environmental temperature: a study by light and electron microscopy of the central nervous system of lizards*. «Proc. Roy. Soc.» (Londres), 154: 151-172, 1961.
- Causey, G., y H. Hoffmann: *The ultrastructure of the synaptic area in the superior cervical ganglion*. «J. Anat.», Londres, 90: 502-507, 1956.
- Colonnier, M., y R. W. Guillery: *Synaptic Organization in the lateral geniculate nucleus of the monkey*. «Zeitschr. f. Zell.», 62: 333-355, 1964.
- Elfvin, L. G.: *The Ultrastructure of the Superior Cervical Sympathetic Ganglion of the cat. I. The Structure of the Ganglion Cell Processes as studied by serial sections*. «J. Ultrastr. R.», 8: 403-440, 1963.
- Harrison, J. M., y W. B. Warr: *A Study of the Cochlear Nuclei and Ascending Auditory Pathways of the Medulla*. «J. Comp. Neurol.», 119: 341, 1962.
- Ha, H.: *A Modified Golgi-Cox Method with Counter-stain for the Study of synapses*. «Anat. Rec.», 155: 59-64, 1966.
- Hinojosa, R., y J. D. Robertson: *Ultrastructure of the spoon type synaptic endings in the nucleus vestibularis tangentialis of the chick*. «J. Cell. Biol.», 34: 421-430, 1967.
- Illis, L.: *Spinal Cord Synapses in the Cat: The normal Appearances by the Light Microscope*. «Brain», 87: 543-554, 1964.
- Kirsche, W.: *Synaptische Formationen im Ganglion stellare des Menschen*. «Jahrb. f. Morph. u. Mikr. Anat.», 60: 399-463, 1954.
- Knoche, H.: *Morphologisch.—Experimenteller Beitrag zum lichtmikroskopischen Bau des vegetativen Nervensystems*. «Zeits. f. Zellforsch.», 54: 207-237, 1961.

- Kurtz, S. M.: *Electron Microscopic Anatomy*. Academic Press, Nueva York y Londres, 1964.
- Mc Lennan: *Synaptic Transmission*. W. B. Saunders Co., Filadelfia, Londres, 1963.
- Majorossy, K., M. Réthelyi y J. Szentágothai: *The large glomerular Synapse of the Pulvinar*. «J. f. Hirnforsch.», 7: 415-432, 1964.
- Majorow, V. N.: *Neue Angaben über den Aufbau der lebenden und absterbenden Neurone sowie der interneuronalen Verbindungen*. «Zeitsch. f. Mikr. Anat. Forsch.», 66: 225-235, 1960.
- Majorow, V. N.: *Über die Dynamik der lebenden interneuronalen Verbindungen (Synapsen) unter experimentellen Bedingungen*. «Zeits. f. Mikr. Anat. Forsch.», 66: 266-289, 1960.
- Ramón y Cajal, S.: *¿Neuronismo o reticularismo? Las pruebas objetivas de la unidad anatómica de las células nerviosas*. «Arch. Neurobiol.», vol. XIII, 1933.
- Ramón y Cajal, S.: *Les preuves objectives de l'unité anatomique des cellules nerveuses*. Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid, 29: 1-137, 1934.
- Ramón y Cajal, S.: *Histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés*. C. S. I. C., Madrid, 1955. T. I.
- Rasmussen, G. L.: *Selective Silver Impregnation of Synaptic Endings. New Research Techniques of Neuroanatomy*. C. C. Thomas, Springfield, Illinois, 1957.
- De Robertis, E.: *Ultrastructure and chemical organization of synapses in the Central Nervous System*. Brain Function, M. A. B. Brazier, University of California Press, 1963.
- Sterling, P., y H. G. J. M. Kuypers: *Simultaneous demonstration of normal boutons and degenerating nerve fibres and their terminals in the spinal cord*. «J. Anat.», 100: 723, 1966.
- Weber, A.: *Instabilité des terminaisons nerveuses dans les synapses intracellulaires du système végétatif*. «Comp. rend. des Séances de la Soc. de Biol.», 146: 813, 1952.
- Westrum, L. E.: *Synaptic contacts on axons in the cerebral cortex*. «Nature» (Londres), 210: 1289-90, 1966.

1901-02 (1901-02) 113

1902-03 (1902-03) 113

1903-04 (1903-04) 113

1904-05 (1904-05) 113

1905-06 (1905-06) 113

1906-07 (1906-07) 113

1907-08 (1907-08) 113

1908-09 (1908-09) 113

1909-10 (1909-10) 113

1910-11 (1910-11) 113

1911-12 (1911-12) 113

1912-13 (1912-13) 113

1913-14 (1913-14) 113

1914-15 (1914-15) 113

1915-16 (1915-16) 113

1916-17 (1916-17) 113

1917-18 (1917-18) 113

1918-19 (1918-19) 113

1919-20 (1919-20) 113

1920-21 (1920-21) 113

1921-22 (1921-22) 113

1922-23 (1922-23) 113

1923-24 (1923-24) 113

1924-25 (1924-25) 113

1925-26 (1925-26) 113

1926-27 (1926-27) 113

1927-28 (1927-28) 113

1928-29 (1928-29) 113

1929-30 (1929-30) 113

1930-31 (1930-31) 113

1931-32 (1931-32) 113

1932-33 (1932-33) 113

1933-34 (1933-34) 113

1934-35 (1934-35) 113

1935-36 (1935-36) 113

1936-37 (1936-37) 113

1937-38 (1937-38) 113

1938-39 (1938-39) 113

1939-40 (1939-40) 113

1940-41 (1940-41) 113

1941-42 (1941-42) 113

1942-43 (1942-43) 113

1943-44 (1943-44) 113

1944-45 (1944-45) 113

1945-46 (1945-46) 113

1946-47 (1946-47) 113

1947-48 (1947-48) 113

1948-49 (1948-49) 113

1949-50 (1949-50) 113

1950-51 (1950-51) 113

1951-52 (1951-52) 113

1952-53 (1952-53) 113

1953-54 (1953-54) 113

1954-55 (1954-55) 113

1955-56 (1955-56) 113

1956-57 (1956-57) 113

1957-58 (1957-58) 113

1958-59 (1958-59) 113

1959-60 (1959-60) 113

1960-61 (1960-61) 113

1961-62 (1961-62) 113

1962-63 (1962-63) 113

1963-64 (1963-64) 113

1964-65 (1964-65) 113

1965-66 (1965-66) 113

1966-67 (1966-67) 113

1967-68 (1967-68) 113

1968-69 (1968-69) 113

1969-70 (1969-70) 113

1970-71 (1970-71) 113

1971-72 (1971-72) 113

1972-73 (1972-73) 113

1973-74 (1973-74) 113

1974-75 (1974-75) 113

1975-76 (1975-76) 113

1976-77 (1976-77) 113

1977-78 (1977-78) 113

1978-79 (1978-79) 113

1979-80 (1979-80) 113

1980-81 (1980-81) 113

1981-82 (1981-82) 113

1982-83 (1982-83) 113

1983-84 (1983-84) 113

1984-85 (1984-85) 113

1985-86 (1985-86) 113

1986-87 (1986-87) 113

1987-88 (1987-88) 113

1988-89 (1988-89) 113

1989-90 (1989-90) 113

1990-91 (1990-91) 113

1991-92 (1991-92) 113

1992-93 (1992-93) 113

1993-94 (1993-94) 113

1994-95 (1994-95) 113

1995-96 (1995-96) 113

1996-97 (1996-97) 113

1997-98 (1997-98) 113

1998-99 (1998-99) 113

1999-00 (1999-00) 113

2000-01 (2000-01) 113

2001-02 (2001-02) 113

2002-03 (2002-03) 113

2003-04 (2003-04) 113

2004-05 (2004-05) 113

2005-06 (2005-06) 113

2006-07 (2006-07) 113

2007-08 (2007-08) 113

2008-09 (2008-09) 113

2009-10 (2009-10) 113

2010-11 (2010-11) 113

2011-12 (2011-12) 113

2012-13 (2012-13) 113

2013-14 (2013-14) 113

2014-15 (2014-15) 113

2015-16 (2015-16) 113

2016-17 (2016-17) 113

2017-18 (2017-18) 113

2018-19 (2018-19) 113

2019-20 (2019-20) 113

2020-21 (2020-21) 113

2021-22 (2021-22) 113

2022-23 (2022-23) 113

2023-24 (2023-24) 113

2024-25 (2024-25) 113

2025-26 (2025-26) 113

2026-27 (2026-27) 113

2027-28 (2027-28) 113

2028-29 (2028-29) 113

2029-30 (2029-30) 113

SINERGISMO ENTRE LAS HORMONAS TIROTROPA,
SOMATOTROPA E INSULINA EN REGULACION
DE LA FUNCION TIROIDEA

por María Dolores García García

STUDIOS SOBRE LAS HORMONAS TIROIDAS
EN LA PATOLOGIA E INSULINIZACION
DE LA FUNCION TIROIDA

por M^{rs}. Dolores García García

CLAVE

- Animal T = Animal tiroidectomizado.
TSH = Hormona tirotrópica.
GH = Hormona de crecimiento.
FSH = Hormona estimulante del folículo.
ICSH = Hormona estimulante de la célula intersticial.
L-T₄ = Levo-tiroxina.
T₄ = Tiroxina.
T₄* = Tiroxina radiactiva.
T₃ = Triiodotironina.
T₃* = Triiodotironina radiactiva.
I⁻ = Ion yoduro.
I* = Iodo radiactivo.
Un McKenzie = valoración biológica de TSH según la técnica de McKenzie.
Ag = antígeno.
Ag* = antígeno marcado.
Ac = Anticuerpo específico.
Ag*·Ac = Complejo antígeno-anticuerpo.
Std. = Solución patrón.
Inyección i.v. = Inyección intravenosa.
Inyección i.p. = Inyección intraperitoneal.

La existencia de un mecanismo de interregulaciones funcionales entre el tiroides y la hipófisis es bien conocido desde muy antiguo. Ya Nièpce (1) en 1815 hizo la observación del aumento del tamaño de la hipófisis en una serie de cretinos bociosos.

Esquemáticamente se puede decir que, en condiciones normales, si el tiroides no produce una cantidad de hormona suficiente para los requerimientos metabólicos del animal, la hipófisis segrega una mayor cantidad de hormona tirotrópica (TSH), que, a su vez, estimula el tiroides a producir y segregar más hormona. Por el contrario, si la cantidad de hormona tiroidea en el organismo es superior a los requerimientos fisiológicos hay una inhibición de la secreción y síntesis de TSH por la hipófisis, lo que da lugar a su vez a una inhibición del tiroides.

Estos hechos llevaron a Hosking (2) a enunciar en 1949 la teoría de las interrelaciones hipófisis-tiroides; según esta teoría, existe entre ambas glándulas un mecanismo de autorregulación negativa (o feedback), en el que *el nivel de hormona tiroidea circulante desempeña el papel de regulador*.

A favor de esta teoría clásica están los siguientes hechos:

1. La tiroidectomía va seguida de una brusca caída en el nivel de hormona tiroidea circulante y de un aumento del TSH circulante acompañados de cambios típicos de la citología hipofisaria (aparición de «células de tiroidectomía»).
2. La administración de tiroxina a un animal T en cantidades eumetabólicas da lugar a una normalización tanto del nivel de T_4 en sangre como de la concentración de TSH circulante y de la histología hipofisaria.
3. Si a un animal T o intacto se le suministran cantidades de T_4 superiores a las fisiológicas, aumenta el nivel de hormona tiroidea y disminuye la concentración de TSH en sangre (3), al mismo tiempo que la citología hipofisaria muestra una inhibición de las células tirotrópicas.
4. Cuando se descubrieron los antitiroideos de síntesis (4),

se observó que producían una hiperplasia de la glándula, ya que impiden la síntesis de hormona tiroidea. El TSH aumenta y aparecen alteraciones hipofisarias comparables a las de la tiroidectomía (5).

Sin embargo, esto no está de acuerdo con la observación de que el tamaño del tiroides de animales intensamente hipotiroideos es *más pequeño* que el de animales que padecen una deficiencia algo más leve en hormonas tiroideas. Esto se interpretó como indicio de que, en condiciones de extremada deficiencia de hormonas tiroideas, la hipófisis acaba agotándose y no puede ya mantener niveles altos de TSH circulante. Pero no se midieron directamente las cantidades de TSH en plasma e hipófisis, sino que se dedujo que había estos cambios de TSH circulante a partir exclusivamente de los cambios observados en el peso del tiroides.

Al presentar la Memoria nos proponíamos investigar la posibilidad de que, en casos de hipotiroidismo extremo, el tiroides no puede responder a este estímulo máximo aunque el nivel de hormona tirotrópica fuese tan elevado como correspondía debido a que, en dicha situación endocrina, los niveles de otras hormonas circulantes son inadecuados.

Ya en 1950 Simpson y colaboradores (6) demostraron que si se tiroidectomizaba a una rata muy joven adecuadamente, al cabo de un mes, aproximadamente, dejaba de crecer. Además del típico aspecto de las «células de tiroidectomía» que se encuentran en la hipófisis de las ratas T, la alteración del crecimiento va acompañada de una degranulación de las células acidófilas de la hipófisis, secretoras de la hormona de crecimiento GH (7). Por lo tanto, los niveles de GH en la hipófisis de ratas tiroidectomizadas se hacen inapreciables (8). Hay, además, una desaparición de todas las otras hormonas tróficas estudiadas, excepto el TSH. Por lo tanto, el hipotiroidismo extremo va acompañado de un estado endocrino parecido al que acompaña a una adenohipofisectomía en cuanto se refiere a todas las hormonas de la adenohipófisis, exceptuando el TSH. La administración a dichos animales de T_4 en dosis que son insuficientes para normalizar el metabolismo del animal y hacer decrecer sus altos niveles de TSH, revierte el cuadro, iniciando y normalizando el crecimiento del animal y normalizando también la función hipofisaria en cuanto a síntesis y secreción de GH, FSH, ICSH y ACTH se refiere (8).

Por supuesto, tratándose de ratas T, no se podía conocer

cómo hubiera respondido el tiroides a un aumento del TSH circulante, acompañado de tan intensa disminución en la secreción de las hormonas adenohipofisarias y de las glándulas dependientes de la hipófisis. En nuestro laboratorio hemos conseguido producir una situación de extrema deficiencia en hormona tiroidea sin necesidad de tiroidectomía quirúrgica. Para ello se coloca a los animales a una dieta pobre de iodo y con ClO_4K al 1 por 100 en el agua de beber, empezando pocos días después del destete. Los niveles de hormonas tiroideas circulantes bajan entonces en pocos días a niveles no detectables y, en menos de un mes, dejan de crecer los animales. El tiroides, aunque sufre una hipertrofia compensadora, no aumenta de peso tanto como era de esperar por los niveles muy altos de TSH que deberían inducirse por los muy bajos niveles de hormonas tiroideas. La banda correspondiente a la GH en hipófisis desaparece en los geles de poliacrilamida tras electroforesis en disco (9). La insulina en plasma baja hasta niveles casi no detectables con el radioinmuno método. Todo este cuadro cambiaba con sólo administrar $0,2 \mu\text{g}$ de $\text{L-T}_4/100$ gr. de peso y día durante 10-15 días: se inicia nuevamente el crecimiento, reaparece la banda de GH en hipófisis y se observa, asimismo, una subida de la insulina plasmática. Paradójicamente, todo esto va acompañado de un aumento del tamaño del tiroides (10), en vez de la disminución prevista por el mecanismo clásico «feed-back» de las interrelaciones hipófisis-tiroides. Estos datos pueden interpretarse de varias maneras. Las dos más probables serán:

a) Que la inyección de pequeñas dosis de T_4 a animales intensamente hipotiroideos ocasiona un aumento de los niveles de TSH en plasma, en vez de una disminución.

b) Que dicha inyección de T_4 en pequeñas dosis no aumenta los niveles de TSH circulante, pero sí los de otras hormonas (como GH, insulina, etc.), permitiendo esto una mayor respuesta del tiroides a los altos niveles del TSH circulante.

Para poder dilucidar entre ambas posibilidades, se requiere poder valorar las hormonas indicadas en animales intensamente hipertiroideos y en aquellos en los que dicha situación se alivia parcialmente por la administración de pequeñas dosis de L-T_4 .

La determinación cuantitativa de hormonas tiroideas en plasma y tiroides se hace de modo rutinario en nuestro laboratorio (11).

La insulina plasmática se mide por el radioinmuno método inicialmente descrito por Hales y Randle (12) empleando el anti-

suero, suero precipitador y hormona marcada procedentes del Radiochemical Center de Amersham, Inglaterra.

Para valorar TSH usamos la técnica modificada de McKenzie (13) que más adelante se describe con detalle y que mide el aumento de radiactividad en sangre tres horas después de una inyección i.p. de la solución patrón de TSH o de la muestra a valorar. También valoramos TSH por el bioensayo de Kirkham (14) que emplea tejido de cobaya; pero, tanto la una como la otra, podrían darnos resultados falsos si en la muestra hubiese otras hormonas que potenciaran la respuesta biológica al TSH. La única manera de soslayar estos inconvenientes es valorar TSH y GH usando radioinmunoensayos. Puede decirse que el trabajo principal de la investigación propuesta en la Memoria presentada para la obtención de una Beca March ha sido llegar a montar estos inmunométodos y mejorar la valoración biológica de MacKenzie. Se presentan los resultados obtenidos en el montaje de estos métodos y en varios grupos experimentales.

VALORACION BIOLOGICA DE TSH

Se sigue la técnica de McKenzie (13, 14), que está basada en lo siguiente:

Se sabe que una de las acciones más directas del TSH es la de estimular la secreción de compuestos iodados por el tiroides. El iodo que sale de la glándula lo hace en forma de T_4 , T_3 y I^- , principalmente. Si los compuestos iodados del tiroides están marcados con iodo radiactivo, hay una secreción constante de compuestos también radiactivos a la sangre. Un aumento del TSH exógeno dará lugar a un aumento del I^* que abandona la glándula y pasa a la sangre. Efectivamente, cambios en la velocidad de desaparición del I^* del tiroides de ratas, cobayas, conejos y otros animales se han usado mucho para detectar cambios en la secreción endógena de TSH. De la misma manera podríamos usarlos para detectar cambios debidos a la inyección de TSH exógeno. Para esto último conviene, sin embargo:

a) inhibir la secreción endógena de TSH, para que posibles cambios en ella no interfieran o enmascaren los debidos sólo al TSH exógeno;

b) usar animales de laboratorio cuyos tiroides son sensibles al TSH, pero que sean lo más pequeños posible para que la cantidad de muestra biológica a inyectar no sea excesiva. No debe olvidarse que, con frecuencia, la cantidad de la muestra a analizar de que uno dispone es muy pequeña. Es importante además que sean animales que puedan manejarse en gran número, pues conviene tener de 5 a 10 animales por cada dilución de la muestra a analizar;

c) poder detectar el aumento de la secreción de compuestos radiactivos, usando muestras de sangre, y no tener que realizar mediciones de curvas individuales de desaparición de iodo radiactivo en el tiroides en un número grande de animales.

Por cumplir estos requisitos es por lo que la técnica de McKenzie (13) ha tenido la difusión y utilidad que actualmente tiene.

Su realización requiere los siguientes pasos:

I) Los ratones de unos 15 gr. de peso se mantienen a dieta pobre en yodo durante unos 10 a 15 días. La finalidad de esto es la de aumentar el tanto por ciento de la dosis de I^* que será luego captado por la glándula y la actividad específica de los compuestos iodados del tiroides.

II) Al cabo de este tiempo se les inyecta una dosis de I^* suficiente para que el I^* tenga la máxima actividad específica en el tiroides, sin que se dañe radiológicamente la glándula (13, 16).

III) Inmediatamente se inhibe la secreción endógena de TSH mediante la administración de T_4 (10 a 20 μg) y, luego, la adición de polvo de tiroides a la comida, o la inyección de 10 μg de T_4 cada dos días (17).

IV) Al cabo de varios días se toma una muestra de sangre, cuya radiactividad se considera como «basal». Se inyecta i.v. o i.p. la muestra que contiene TSH. Al cabo de 2 horas (tras inyección i.v.) o de 3 horas (tras inyección i.p.) (17), se saca otra muestra de sangre de igual volumen que la primera. El aumento de radiactividad es proporcional a la dosis de TSH inyectada (la relación es lineal en función del logaritmo de esta concentración). Esta «respuesta» se suele expresar en tanto por ciento de aumento sobre el valor de la radiactividad basal, tomando a esta última como 100 por 100.

Esta técnica se ha empleado en numerosos laboratorios, incluido el nuestro, dando resultados muy útiles. Sin embargo, es la experiencia de todos que cada lote de ratones es «distinto». Con esto, en realidad, lo que se quiere decir es que con una misma dosis de TSH se obtienen respuestas de intensidad muy variable de un lote de animales a otro. Los datos son además muy variables también dentro de un mismo lote de animales. Ambos inconvenientes merman la utilidad de esta técnica, que, a pesar de todo, es la que se emplea actualmente para bioensayos de TSH.

Por este motivo se han realizado varias investigaciones encaminadas a corregir dichos inconvenientes. Se ha probado si unas cepas de ratones dan resultados más consistentes (18), y, también, se ha intentado ver la manera matemática de expresar la respuesta, y el tipo de análisis de varianza con que mejoran los datos obtenidos, sin demasiado éxito. McKenzie (15) también comentó que no se conseguía mejorar el bioensayo variando el tiempo antes de la inyección de I^* durante el cual los animales estaban sometidos a dieta pobre en yodo.

Por lo importante que resulta este bioensayo, hemos tratado de comprender cuáles son, en realidad, los factores que influyen en el mayor o menor aumento de la radiactividad sanguínea en respuesta a una dosis determinada de TSH, basándonos, en parte, en datos y conceptos sobre el metabolismo intratiroideo del yodo I^{127} e I^* desarrollados recientemente en nuestro laboratorio, en datos sobre el diferente transporte de la T_4 , T_3 e I^- por las proteínas plasmáticas, y en consideraciones de orden práctico. Entre las últimas descuella el que la secreción de compuestos iodados por el tiroides, en respuesta a una dosis determinada de TSH, vaya acompañada de una secreción de I^* en cantidades suficientes para que puedan contarse en un tiempo máximo de 5 minutos con un error de conteo no demasiado alto. La manera clásica de corregir esto, empleada por McKenzie, es tener los animales a dieta pobre en yodo para que aumente la captación del I^* y los compuestos iodados intratiroideos tengan una mayor actividad específica. Ahora bien, esto tiene un límite.

Los datos obtenidos en varios laboratorios, incluido el nuestro (19, 20, 21) demuestran que, para la rata, la distribución intratiroidea de I^* depende de la cantidad de yodo estable aprovechable por la glándula para la iodación. Cuando el I^{127} tiroideo decrece, los cocientes MIT^*/DIT^* y T_3^*/T_4^* aumentan y, en casos de valores muy bajos de I^{127} tiroideo, el tanto por ciento de I^* presente como T_4^* decrece. Estos cambios, además, no son lineares: son relativamente pequeños, alrededor de valores de aproximadamente 2 $\mu\text{g}/\text{glándula}$. Por debajo de estos valores «críticos», pequeños cambios en el contenido tiroideo de I^{127} van acompañados de variaciones muy intensas en la distribución de I^* . Valores también muy altos del cociente T_3^*/T_4^* han sido descritos por Postmes (22) en el caso de ratones deficientes de yodo. Parece que para esta especie existe una relación similar entre este cociente T_3^*/T_4^* y el I^{127} tiroideo, aunque ni este punto ni el valor «crítico» hayan sido determinados. Por esto se podría considerar la posibilidad de que cambios en la distribución intratiroidea de I^* podrían afectar tanto a los niveles de I^* de la sangre «basal» de los ratones usados para un McKenzie como a los valores de la «respuesta» a una dosis dada de TSH. La hidrólisis de la misma cantidad de tiroglobulina pobremente iodada con una proporción alta de I^* presente como T_3^* produce menos radiactividad en sangre que la hidrólisis de una más iodada y, por lo tanto, más rica en T_4^* : en muchas especies animales la T_3 desaparece de la circulación mucho más veloz-

mente que la T_4 . Por esta razón la intensidad del «pico» en la respuesta, o sea la radiactividad de la sangre «respuesta», podría ser completamente diferente en animales con valores diferentes del cociente T_3^*/T_4^* . Nosotros hicimos nuestros experimentos sobre la hipótesis de trabajo de que el I^{127} tiroideo de los ratones preparados para un McKenzie que han estado sometidos a una dieta pobre en iodo, podría haber llegado a alcanzar el nivel crítico, o incluso más bajo. En ambos casos, aunque la variación del I^{127} sea muy pequeña, se producen cambios muy grandes del cociente T_3^*/T_4^* intratiroideo y estas diferencias contribuirían considerablemente a la gran variabilidad de los valores de I^* sanguíneo durante el ensayo y a que hubiera una respuesta baja, esto es, un pequeño incremento en el I^* sanguíneo a un tiempo fijo después de una estimulación con TSH u otro estimulador tiroideo.

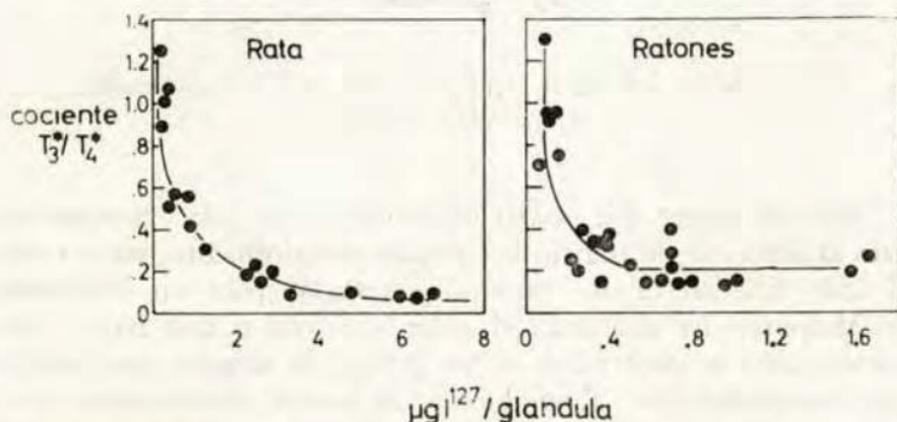


FIG. 1. Relación entre el contenido en I^{127} tiroideo y la distribución intratiroidea de I^* medida por el cociente T_3^*/T_4^* en ratas (datos de Herrera y col., 1968) y ratones. Los datos de estos últimos representan los valores medios obtenidos en muchos experimentos realizados durante más de un año. El I^* se inyectó siempre de 24-48 horas antes de que se recogiesen los tiroides.

La figura 1 muestra que la distribución intratiroidea de I^* en función del I^{127} es igual para los ratones que para las ratas. Cuando los valores de este último parámetro están entre 0,2 y 0,4 $\mu\text{g}/\text{glándula}$ o más bajo, pequeñas cantidades en el contenido en I^{127} producen un gran incremento de los cocientes T_3^*/T_4^* . Para valores de I^{127} comprendidos entre 0,05 y 0,75 $\mu\text{g}/\text{glán-}$

duda, existe una correlación positiva entre los valores de I^{127} y el I^* intratiroideo presente en forma de $L-T_4^*$ ($r = 0,774$, $N = 7$, $P < 0,02$) (figura 2).

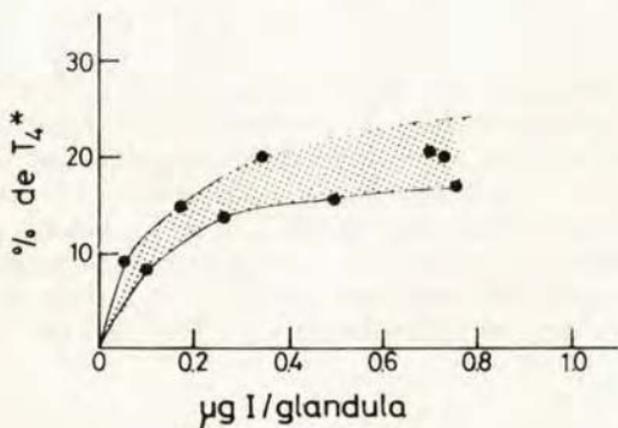


FIG. 2. Correlación positiva al tanto por ciento de T_4^* y el contenido I^{127} en glándula (ratón).

Así que parece que podría haber una cierta base experimental para la hipótesis de trabajo bosquejada anteriormente, puesto que el yodo tiroideo de los ratones preparados para un bioensayo de McKenzie ha alcanzado el valor «crítico» o más bajo. Pero cuando esto se determinó en un grupo de ratones que habían sido inyectados con salino durante el ensayo, encontramos que, sin esperarlo, los valores de I^{127} en glándula oscilaban entre 0,8 y 1,2 $\mu\text{g}/\text{glándula}$, valor que era mucho más alto que lo que era de esperar para ratones deficientes en yodo. Estos valores eran también los que tenían los ratones al llegar al laboratorio antes del tratamiento a dieta pobre en yodo. La dieta pobre en yodo sí que había sido efectiva, pero siempre el I^{127} era normal después de que los ratones fueron usados para un ensayo. Midiendo diferentes parámetros durante el período de preparación de los ratones para el bioensayo, apareció que el tratamiento a dieta pobre en yodo, incluido o no un período con drogas antitiroideas, es efectivo, puesto que el contenido tiroideo de I^{127} disminuye, produciendo a su vez una elevación de los cocientes T_3^*/T_4^* y una disminución del tanto por ciento de T_4^* (ambas cosas carac-

terísticas de los tiroides deficientes en iodo). Como muestra la figura 3, todos estos datos revierten a la normalidad, *después* que los ratones han sido usados para un McKenzie. La actividad específica del I*, tanto sanguínea como tiroidea, baja conside-

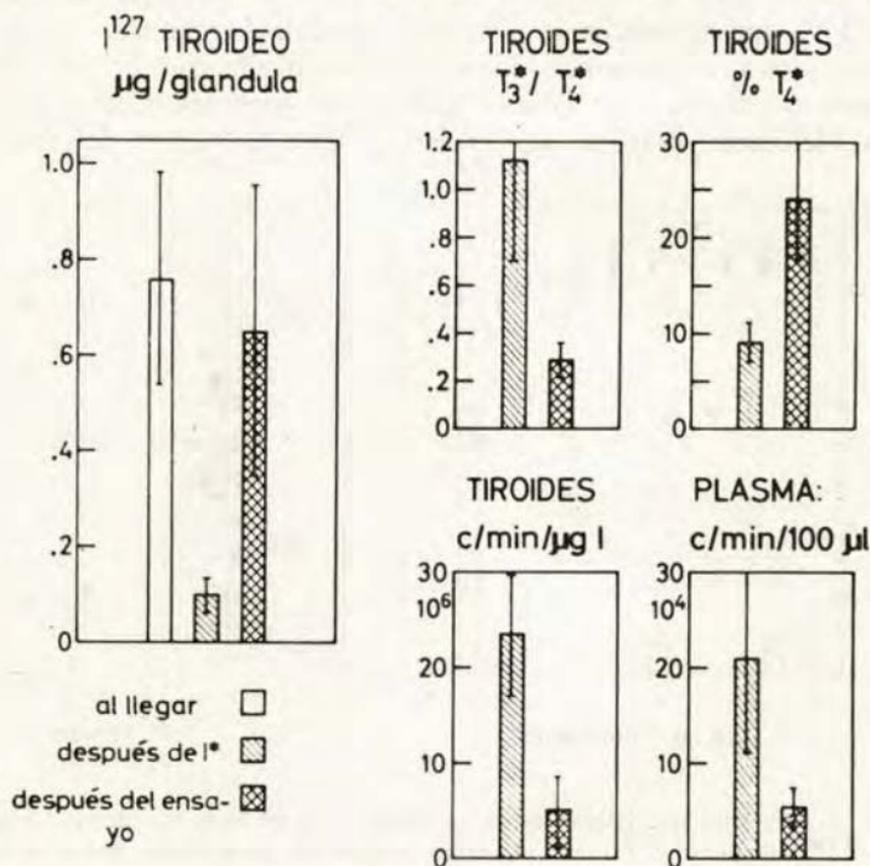


FIG. 3. Radiactividad plasmática, contenido tiroideo de I^{127} y distribución intratiroidea de I^* en ratones al llegar al laboratorio, al final de una dieta pobre de iodo después de la inyección de I^* , y después de un ensayo de McKenzie en el que se inyectó salino. Los valores presentados son las medias \pm DS.

rablemente de los altos valores obtenidos justo después del período a dieta pobre en iodo. La posibilidad de que este incremento del I^{127} tiroideo y de los cambios que lo acompañan fueran debidos a contaminaciones de alguna solución empleada para el ensayo de McKenzie, se excluyó experimentalmente. La fi-

gura 4 muestra que es la inyección de $L-T_4$, usada en principio sólo para suprimir el TSH endógeno del ratón, la que causa los cambios arriba indicados. La disminución de la actividad específica del I^* tiroideo hace pensar que este efecto de la inyección de $L-T_4$ podría ser atribuido, en gran parte, al contenido elevado de I^{127} que aprovecha la glándula. La tabla I resume todos los resultados que obtuvimos cuando $L-T_4$ marcada con I^{125} se usó como «supresor». Los ratones habían sido preparados como para un McKenzie, pero no se les inyectó con I^* antes del trata-

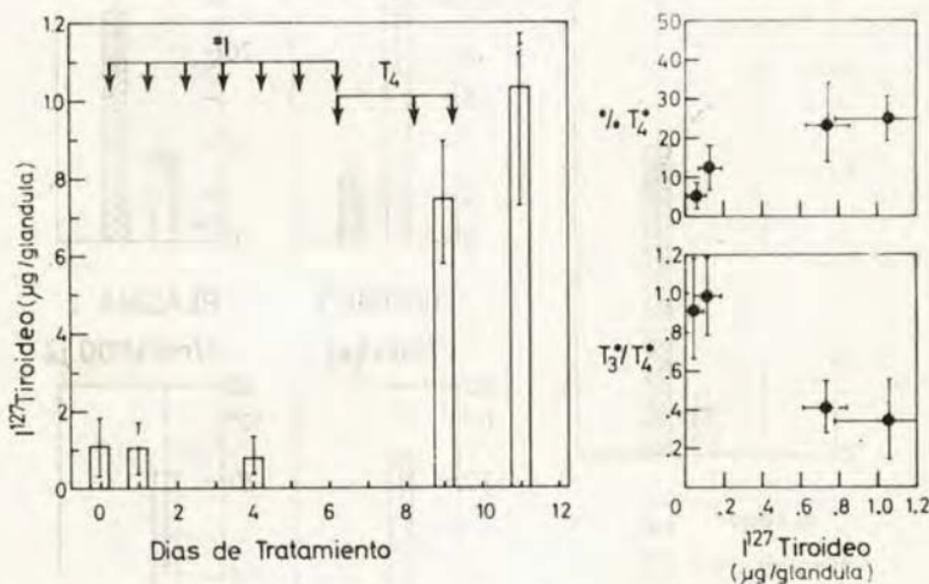


FIG. 4. Ratones que habían estado a dieta pobre en yodo recibieron $15 \mu\text{c}$ de I^{125} /día durante 7 días. Se matan grupos de 10 animales antes de la primera dosis de I^* y a las 24 horas y 4 días después de iniciar este tratamiento. Después de la última inyección radiactiva los ratones reciben $20 \mu\text{g}$ $L-T_4$ /ratón, seguido de dosis de $10 \mu\text{g}$ $L-T_4$ /ratón 48 horas y 72 horas después. Los últimos grupos de ratones se matan 24 horas después de la segunda y de la tercera inyección de hormona. Los valores presentados son las medias \pm DS.

miento hormonal. Aunque el I^* administrado a estos animales estaba en forma de $L-T_4$, se encontró un aumento de la radiactividad tiroidea en estos animales y la distribución de los compuestos iodados del tiroides indican que este I^* fue usado por la glándula para la iodación.

TABLA 1

Contenido de I^{127} e I^* tiroideos y distribución de I^* intratiroideo en ratones a dieta pobre en iodo y con $L-T_4$ como supresor usados para un bioensayo de McKenzie, pero marcados con $L-T_4^*$. Los datos son medias \pm DS. La actividad específica de $L-T_4^*$ era de $1 \mu\text{g}/310 \mu\text{g}$.

	A 24 h. después 20 μg $L-T_4^*$	B 48 h. después 20 μg $L-T_4^*$	C 72 h. después 20 μg , 24 h. después 10 μg $L-T_4^*$
Contenido de I^{127} : $\mu\text{g}/\text{glándula}$	0,44 \pm 0,06	0,61 \pm 0,11	0,91 \pm 0,28
Contenido de I^* : como % de la dosis de $L-T_4^*$	5,79 \pm 2,32	7,03 \pm 1,86	5,20 \pm 0,62
Contenido de I^* : en $10^4 \times \text{c./min.}$	14,1 \pm 5,6	17,1 \pm 4,5	18,9 \pm 2,2
Distribución de I^* como % de:			
MIT *	16,9 \pm 3,6	22,2 \pm 6,2	25,1 \pm 0,6
DIT *	21,0 \pm 4,2	36,5 \pm 7,0	39,6 \pm 5,0
T_3^*	4,9 \pm 1,2	3,8 \pm 0,6	3,7 \pm 1,9
T_4^*	13,2 \pm 2,5	16,0 \pm 3,5	18,5 \pm 3,7
I^*	30,5 \pm 7,4	8,3 \pm 1,0	7,4 \pm 0,9
Cocientes T_3^*/T_4^*	0,36 \pm 0,03	0,25 \pm 0,06	0,19 \pm 0,06
Cocientes MIT */DIT *	0,81 \pm 0,15	0,61 \pm 0,15	0,65 \pm 0,06

¹ El I^{127} tiroideo al principio de este tratamiento y antes de la inyección de $L-T_4$ era de $0,07 \pm 0,02 \mu\text{g}/\text{glándula}$.

Las implicaciones de estos descubrimientos preliminares son muchas y variadas y son la base de trabajos en curso. Desde un punto de vista meramente práctico se sugieren las siguientes modificaciones:

a) Un largo período a dieta pobre en yodo, si está seguido por altas dosis de $L-T_4$, parece innecesario a no ser que la dieta a la que estuvieron sometidos los ratones antes de traerlos al laboratorio tuviera un altísimo contenido en yodo. Como demostramos aquí, la administración de la hormona contrarresta en el tiroides todos los efectos de la dieta pobre en yodo incluyendo el incremento de radiactividad en sangre y la actividad específica del I^* tiroideo que eran los motivos principales de la dieta pobre en yodo. Además, si la dieta pobre es efectiva en cuanto que descienden los valores del I^{127} tiroideo, esto mismo podría contribuir a la entrada dentro del tiroides de I^{127} derivado de la $L-T_3$. Van Middlesworth en 1969 (23) demostró que la captación de I^- por el tiroides de animales hipofisectomizados permanecía elevada durante un largo tiempo después de la operación de los animales si habían estado previamente a dieta pobre en yodo mientras que bajaba de manera dramática en animales que habían recibido una dieta adecuada en yodo antes de la operación.

b) El uso de altas dosis de $L-T_4$ para suprimir el TSH endógeno debe ser descartado: su alto contenido en yodo es la fuente mayor de variabilidad de los datos de la radiactividad de las sangres «basal» y «respuesta». Podría, además, afectar el grado de respuesta aparente a una estimulación dada de TSH si la hipótesis «last-come, first-served» de la secreción tiroidea fuera correcta, puesto que, considerando la duración de los tratamientos con I^* y $L-T_4$ en el bioensayo de McKenzie, el último yodo que entra en la glándula no está marcado, sino que es yodo estable. Nosotros podríamos, pues, tener una descarga apreciable de compuestos no marcados del tiroides después de un estímulo con TSH, pero sin que esta descarga estuviese acompañada de un incremento de la radiactividad sanguínea. En la rata, la entrada y organificación del I^{127} dentro de tiroides marcados y deficientes de yodo disminuye la velocidad de salida de I^* tiroideo (24). El I^{127} proporcionado por la $L-T_4$ en el bioensayo de McKenzie podría tener este mismo efecto, lo que sería desastroso en un método basado sobre cambios de la descarga de I^* del tiroides.

De estos comentarios se deduce que una buena modificación

para el ensayo podría consistir en incrementar la captación tiroidea de I^* con un tratamiento a dieta pobre en yodo y entonces usar un supresor que proporcionará cantidades pequeñísimas de I^{127} junto con una actividad supresora grande como sucede con la $L-T_3$. Además, sería conveniente que el tratamiento a dieta pobre no fuera demasiado intenso, puesto que, como indicamos al principio de esta sección, los cocientes T_3^*/T_4^* altos serían una fuente de dificultades. La tabla 2 muestra los resultados comparativos obtenidos cuando los ratones de un mismo lote se inyectaron con el mismo TSH después de estar sometidos a diferentes tratamientos: I) dieta pobre en yodo seguida de una sola dosis de I^* y supresión con $L-T_4$; II) sin dieta pobre seguido de una sola dosis de I^* y $0,2 \mu\text{g}$ de $L-T_3/\text{día}$; III) sin dieta pobre, seguido de inyecciones diarias de I^* durante 5 días y también $0,2 \mu\text{g}$ de $L-T_3/\text{día}$.

Los tratamientos II) y III) nos dieron mejores resultados que el que recibió dosis de $L-T_4$. La inyección diaria de I^* durante

RESPUESTA AL TSH ($0,5 \mu\text{U}$) EN RATONES
PRETRATADOS DE DIFERENTES
MANERAS

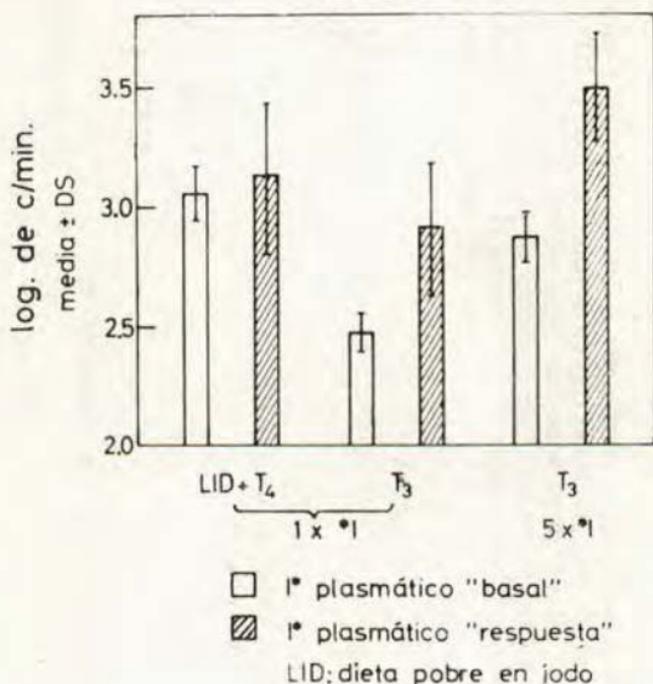


FIGURA 4, a

TABLA 2

Comparación de la «respuesta» a una dosis de TSH patrón (0,5 μ V/ratón) de ratones pretratados de diferentes maneras. Grupo A: fue preparado con dieta pobre en yodo (LID) y varias dosis de L-T₄ como se indicó en la metodología. Grupo B y C: fueron preparados con dieta normal (DN) recibiendo el I* una sola vez o a diario durante 5 días, respectivamente. La inyección de I* (o la última en el caso del grupo C) fue seguida de 0,2 μ g de L-T₃ subcutáneo/día. Todos los animales fueron usados para el ensayo el 5.º día después del tratamiento hormonal. Las inyecciones de I* fueron 15 μ C de I¹²⁵/ratón. Los datos expuestos son las medias \pm DS.

GRUPO Tratamiento	A LID + I* (1 \times) + T ₄	B DN + I* (1 \times) + T ₃	C DN + I* (5 \times) + T ₃
Radiactividad en sangre: log. c./min./100 ul			
1) «Basal»	3,0789 \pm 0,1134	2,4919 \pm 0,0806	2,8707 \pm 0,10647
2) «Respuesta»	3,1378 \pm 0,3332	2,9275 \pm 0,2798	3,5074 \pm 0,2137
Estadística: P de la diferencia entre 1) y 2)	no significativo	< 0,001	\ll 0,001

algunos días aumentaría la radiactividad sanguínea con la posibilidad de disminuir el tiempo de conteo de cada muestra (figura 4 a).

Es interesante decir que la presente modificación (sobre todo el uso de dosis pequeñas de L-T₃ como supresor) derivada directamente del hallazgo de que altas dosis de L-T₄ contribuyen a proporcionar al tiroides una gran cantidad de I¹²⁷ es completamente idéntica a lo descrito recientemente por otros autores (25, 26). Además y volviendo a la teoría «last-come, first-served», si es correcta, parecería correcto también usar los ratones lo antes posible después de la inyección de I* como hacen los autores arriba indicados.

METODICA QUE ACONSEJAMOS PROVISIONALMENTE

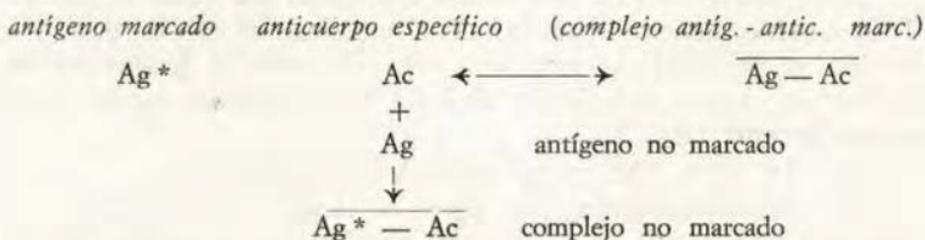
Se reciben los ratones unos 15 días después del destete. Se les alimenta con pan y leche, a los que se añade un antiroideo (CIO —, MMI o PTU); se les tiene a esta diesta hasta que los valores de I^{127} en tiroides bajan aproximadamente $0,2 \mu\text{g I/glándula}$. Para comprobarlo se matan de vez en cuando 10 ratones del grupo y se analiza el I^{127} de cada glándula por el método de Zak modificado por Benotti (27, 28). Cuando el contenido de iodo tiroideo ha bajado a los valores deseados se les suprime el tratamiento con antiroideos durante unos días (5-7 días), manteniéndolos con una dieta pobre en iodo. Al final de este período se les inyecta I^{125} ($15 \mu\text{C}$) con $1 \mu\text{g}$ de I^{127} a cada ratón. A las dos horas de esta inyección se les pone subcutáneamente $0,2 \mu\text{g}$ de T_3 /ratón durante 3-4 días hasta que se realiza la experiencia.

La experiencia propiamente dicha consiste en hacer a tiempo una toma de sangre, «basal», del seno retrobital del ratón, inyectar seguidamente la solución patrón de TSH o del suero o sustancia a valorar y hacer una nueva extracción de sangre a las 3 horas de esta inyección. A esta segunda extracción llamamos «respuesta». El volumen de sangre extraída suele ser de 100 ml. y la cantidad de sustancia inyectada oscila entre 0,2 y 0,5 ml. Se cuentan en un buen contador de radiactividad las dos muestras de sangre y se calcula el tanto por ciento de aumento de radiactividad de la respuesta sobre la basal que, en caso de haber inyectado salino, es alrededor del 100 por 100, generalmente por debajo de esta cifra. Esta respuesta aumenta proporcionalmente al logaritmo de la dosis de TSH inyectada.

MONTAJE DE LA VALORACION DE TSH DE RATA POR RADIOINMUNOMETODO

El fundamento de este método y la parte técnica son casi iguales al método de la insulina descrito por Hales y Randle (29) y al de ACTH de Felber (30). La dificultad estriba en la gran especificidad de especie que, en el caso del TSH y de GH, es muy superior a la de la insulina. Los preparados muy purificados que podemos encontrar son bovinos y humanos, pero no de rata. Sin embargo, varios autores han descrito el hecho de que si bien los anticuerpos frente a TSH bovino y humano con muy alto grado de pureza son muy específicos y no existe reacción cruzada (31), sí la hay, en cambio, cuando las muestras de TSH que se emplean para inmunizar no están del todo purificadas.

El principio general de los inmunoensayos es el siguiente (30):



La hormona que actúa de antígeno se une al anticuerpo y da lugar al complejo antígeno-anticuerpo. Este complejo puede ser radiactivo o no según que la hormona con la que reacciona el anticuerpo esté o no marcada. Los radioinmunoensayos aprovechan la propiedad de la hormona no marcada del plasma o de otras soluciones de competir con la hormona marcada en su reacción con el anticuerpo específico y, por lo tanto, de evitar la formación del complejo antígeno-anticuerpo marcado. Si llamamos a la hormona libre marcada F («free») y al complejo antígeno-anticuerpo marcado B («bound»), la razón B/F disminuye al aumentar la concentración de hormona no marcada.

Para todo radioinmuno método son necesarias 3 condiciones: 1.^a, un anticuerpo específico; 2.^a, una hormona marcada, y 3.^a, un método que separe el complejo y la hormona que queda libre, puesto que los complejos antígeno-anticuerpo no precipitan espontáneamente dada la baja concentración de las sustancias reaccionantes.

1. OBTENCIÓN DE ANTISUEROS: No encierra mucha dificultad la obtención de un antisuero contra TSH bovino, puesto que gran número de hormonas peptídicas de peso molecular superior a 4.000 son antigénicas en cobaya, conejo, cabra, etc. Basándonos en ello, nosotros hemos obtenido antisueros inoculando a cobayas durante unas seis semanas una mezcla de volúmenes iguales de TSH bovino impuro * (Thyropar de Armour & Co. III) (1-2 unidades) con Freund's adjuvant completo, hecha la mezcla en el momento de la inyección (32, 33, 34). La vía de entrada es la subcutánea, empezando por la piel interdigital y siguiendo por la piel del lomo cuando las patas de los cobayas están llenas de pústulas. Al cabo de las seis semanas se les extrae sangre del corazón y se les deja vivir para hacerles nuevas extracciones, siempre con una previa dosis de recuerdo intravenosa o intraperitoneal.

a) *Comprobación de su actividad anti-TSH bovino y de rata:*

a₁) *In vivo.* Los antisueros obtenidos en cobayas contra TSH bovino tienen capacidad de neutralizar el efecto de TSH bovino y de TSH de rata «in vivo» usando el bioensayo de McKenzie. Ambas soluciones, el TSH y el antisuero, se inyectan separadamente (fig. 5).

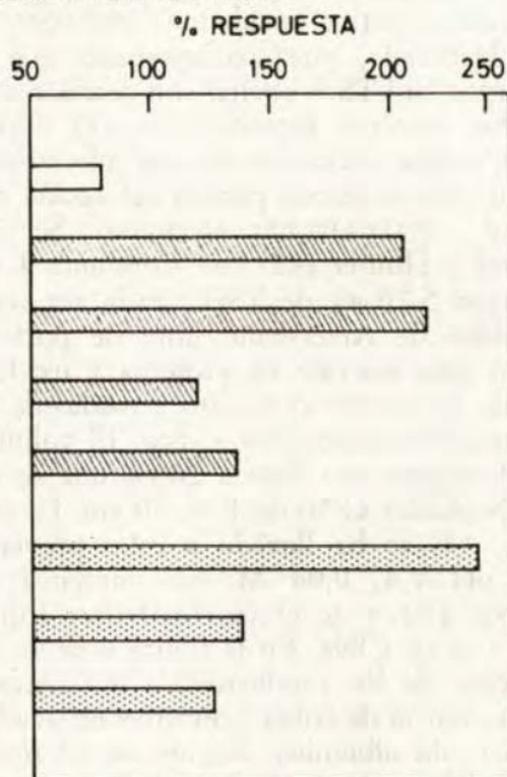
a₂) *In vitro.* Se comprueban los antisueros por:

I) *Hemaglutinación.* Se sigue la técnica de Stawisky (35, 36), que está basada en lo descrito por Boyden en 1951 (37) de que existe una adsorción de diversas proteínas sobre la superficie de eritrocitos pretratados con ácido tánico que puede dar lugar a aglutinaciones en presencia del antisuero correspondiente (38). Con ninguno de los antisueros obtenidos tuvimos un resultado francamente positivo.

II) *Por técnicas de difusión en gel.* Estas técnicas fueron usadas la primera vez en 1905 por Bechhold (39) y más tarde por diversos autores: Oudin (1946), Ouchterlony (1974), Elek

* Se ha usado el preparado «impuro» por ser éste el único del que se sabe que induce en cobaya la formación de anticuerpos anti-TSH bovino con reacción de cruce frente a TSH de rata

INHIBICION, IN VIVO, DE LA RESPUESTA A TSH BOVINO Y DE RATA (BIOENSAYO DE MCKENZIE) POR SUEROS DE COBAYAS INMUNIZADOS CONTRA TSH BOVINO



B-TSH: 0.5 mU de TSH bovino
S.C.N: Suero normal de cobaya

R-TSH: 0.002 de una hipófisis de rata
anti B-TSH: Suero de cobaya inmunizados contra B-TSH

FIG. 5. Inhibición «in vivo» por antisueros obtenidos en cobayas contra Thytropar de la respuesta a TSH bovino (B-TSH) y a TSH de rata (R-TSH) medida en ratones por el bioensayo de McKenzie. Las inyecciones de anti-suero y salino, TSH o plasma normal de cobaya se dieron separadamente en 0,125 ml./ratón inmediatamente después de la toma de sangre «basal».

(1948), Grabar (1957), etc. Nosotros empleamos la técnica de Ouchterlony de doble difusión (40, 41) en placas de agar. En el pocillo central se pone el antígeno y en los exteriores los sueros cuya concentración de anticuerpos se quiere medir. En el sitio

de unión de los dos reactivos aparece un halo de precipitación que es más o menos intenso según la concentración de anticuerpo, o es nulo cuando el antígeno no tiene ningún poder de reaccionar frente al antígeno puesto. Con esta técnica obtuvimos halos de reacción positiva en algunos antisueros.

Habiendo, pues, comprobado que habíamos obtenido anticuerpos anti-TSH bovino con reacción anti-TSH de rata «in vivo» y con reacción inmunológica «in vitro» parecía muy probable que dichos antisueros fuesen adecuados para el montaje de un radioinmuno método para la valoración de TSH de rata.

2. MARCAJE DEL ANTÍGENO: Se sigue el método de Greenwood y Hunter (42) con cloramina T como agente oxidante. Se marcan 5-10 μg de TSH¹ cada vez con 2 mc. de I¹²⁵ que nos mandan de Amersham, libre de portador, especialmente preparado para marcaje de proteína y usado el mismo día de su llegada. Al minuto o minuto y medio de la adición de cloramina T se añade metabisulfito sódico. El volumen total de los productos reaccionantes no llega a 200 λ que se transfieren a una columna de Sephadex G-50 de 1 \times 10 cm. La equilibración de la columna (43, 44) se ha llevado a cabo previamente con buffer fosfato de pH 7,4, 0,04 M que contenga seroalbúmina bovina² al 2 por 100, y se eluye con buffer fosfato pH 7,5, 0,01 M con 0,15 M de ClNa. En la figura 6 se ve una representación de una elución de los productos de un marcaje y puede observarse la importancia de haber previamente lavado la columna de Sephadex con o sin albúmina. Representa el resultado de un mismo marcaje del que una parte se pasó por una columna Sephadex G-50 sin equilibrar con albúmina y otra parte por una columna convenientemente equilibrada.

El eluido se recoge en fracciones de 0,5 ml. en tubos que contienen 0,1 ml. de la solución de albúmina al 2 por 100. Las primeras fracciones están libres de radiactividad. A partir de la fracción 5 empieza a salir la hormona marcada y hacia la 15-18 sale el I-*. Para escoger la fracción de mayor pureza de cada una de ellas se hace una electroforesis en papel Whatman núm. 1 con buffer 0,04 M fosfato de pH 7,4 durante 1 hora a 400 V y a 4° C (44). Las tiras de papel, una vez secas, se cuentan dividiéndolas en fracciones de 0,5 cm. de ancho. Las fracciones que aparecen después de purificar por Sephadex G-50 y que han resultado

¹ TSH bovino (NIH-TSH-B₄) de NIH Pituitary Agency.

² Fracción V de Sigma Chemical Co.

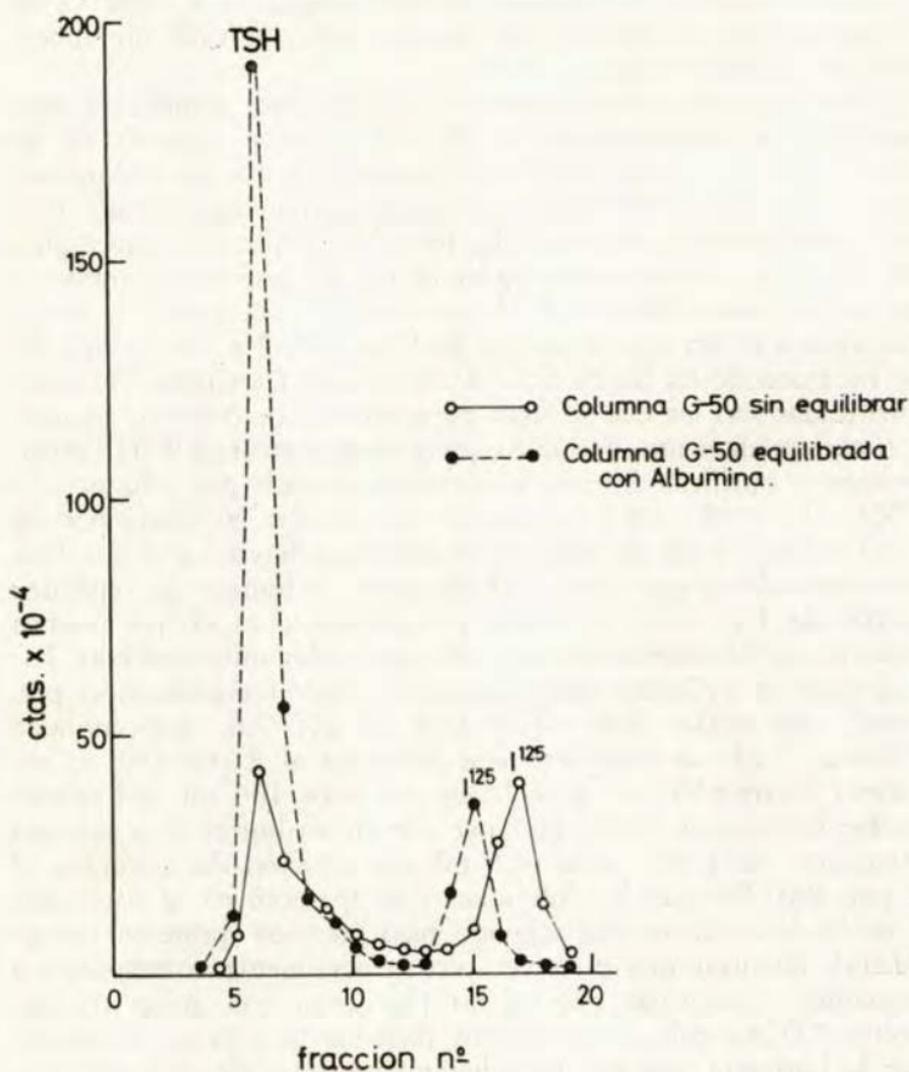


FIG. 6. Separación por Sephadex G-50 de los productos de reacción de un marcaje de B-TSH. El primer pico corresponde a B-TSH* y el segundo a I-*. ●—● La columna había estado equilibrada previamente con albúmina. ○—○ La columna de Sephadex G-50 no fue equilibrada con albúmina anteriormente. Se observa una disminución del pico correspondiente a la hormona marcada en este último caso.

más puras en electroforesis sobre papel se llevan a una dilución 1/5 con el mismo buffer 0,01 M fosfato, pH 7,6 con ClNa 0,15 M y que contiene el 2 por 100 de albúmina bovina. Se

distribuye en alícuotas que se guardan congeladas a -20°C , de forma que sólo se descongelen una vez antes de cada inmunoensayo propiamente dicho.

Dos son los procedimientos generalmente empleados para purificar las preparaciones de B-TSH antes o después de su marcaje con I^* . Uno de ellos es la cromatografía en carboxymetilcelulosa (CM-C) (45) aplicada según Lemarchand-Béraud (43, 44 y comunicación personal). La proteína purificada aparece alrededor de una concentración molar de 0,3 M durante un gradiente de elución con ClNa (0-1,1 M). Se cuantifica midiendo la densidad óptica en un espectrómetro Beckman DU-2 a 260 y 280 $\text{m}\mu$ de cada una de las fracciones del eluido. Las fracciones altamente purificadas son las que se usan para marcar; pero como, además, son extremadamente inestables, preferimos marcar el TSH bovino primero y purificar después la hormona marcada por columnas de CM-C (1 \times 40 cm.) recogiendo los eluidos en fracciones de 1 ml. sobre 0,1 ml. de solución de albúmina bovina al 2 por 100. Otro método de purificar TSH es usando columnas de Sephadex G-100 de 1,2 \times 40 cm. Este procedimiento es el que usamos nosotros preferentemente antes de cada radioinmuno método. Las columnas se preparan como aconseja Utiger (comunicación personal) con buffer 0,01 M fosfato de pH 7,6, que contiene ClNa 0,15 M; se equilibran con albúmina al 2 por 100 en ese mismo buffer (30 ml.) y se lavan con unos 100 ml. del mismo buffer fosfato con ClNa . Se eluye con dicho buffer y se recogen fracciones de 1 ml. sobre 0,1 ml. de solución de albúmina al 2 por 100. Se usan las fracciones que aparecen en la parte alta y en la descendiente del segundo pico proteico (proteína «retardada»), mientras que el tercer pico generalmente corresponde a fracciones radiactivas que, o no precipitan con ácido tricloroacético (TCA), o lo hacen en muy pequeña proporción. El purificar la hormona marcada inmediatamente antes de cada inmunoensayo nos permite utilizar dicha hormona marcada durante algunos meses, así como disminuir la precipitación inespecífica de radiactividad.

3. SEPARACIÓN DEL COMPLEJO ANTÍGENO-ANTICUERPO: Existen muchas técnicas para separar el complejo marcado y la hormona libre. Aprovechando la particularidad de que las hormonas libres se adsorben en el lugar de su aplicación en algunas materias como el papel, mientras en el complejo antígeno-anticuerpo no lo hacen, una de las primeras técnicas empleadas en los inmunoensayos en general fue la cromatoelectroforesis en papel (46,

47,48) que permite además reconocer el I — libre, puesto que emigra a un lugar distinto del complejo. Esta misma propiedad se aprovecha en el caso del flujo hidrodinámico. La dificultad de uno y otro sistema es encontrar el papel más adecuado para cada hormona. Este principio de la adsorción de la hormona libre a distintos sólidos ha hecho posible otros métodos de separación. Así, se emplean los gránulos de sílice (49), la celulosa, el carbón mezclado de antemano a dextrano de un determinado peso molecular (50, 51), los discos de protapol (52 y comunicación personal) (discos de Poly [tetrafluoroetileno-g-isotiocianato, estireno]), etc.

Odell y colaboradores (53, 54) logran buenas separaciones precipitando el complejo con 55 por 100 de etanol y 5 por 100 de salino.

Otra técnica de separación es la precipitación con el doble anticuerpo. Para ello se usan antisueros obtenidos contra las gamma globulinas de la especie animal donde se ha obtenido el antisuero anti-TSH; así el complejo antígeno-anticuerpo aumenta de tamaño y puede ser separado del resto por centrifugación o por filtrajes a través de placas Oxoid, Millipore o papel Whatman GF/C (55, 56). Nosotros hemos empleado con bastantes buenos resultados antigamma globulinas de cobaya, obtenidas en cabra o conejo, de Difco, Burroughs-Wellcome y, últimamente, de Antibodies Incorporated.

El inconveniente de la doble precipitación con el segundo anticuerpo está en que pueden existir factores inespecíficos en los plasmas problema, que pueden interferir esta segunda precipitación. A pesar de ello se emplea muchísimo, sobre todo para el montaje de curvas patrón y cuando se usan extractos hipofisarios.

Procedimiento a seguir en el radioinmuno método de TSH de rata

El NIH-TSH-B₄ o la Standard internacional de TSH bovino se usan como patrones cuando se estudia el desplazamiento que produce el TSH bovino en el complejo anticuerpo-B-TSH *. Para estudiar el desplazamiento producido en este mismo complejo por TSH de rata usamos un homogenado de hipófisis de ratas machos normales hecho en buffer 0,01 M fosfato, 0,15 M ClNa y con el 2 por 100 de albúmina bovina. Dicho homogenado se

centrifuga a 3.000 r.p.m. durante 20 minutos. Se guarda el sobrenadante en fracciones de 0,05 ml. a -20° C. de forma a descongelar sólo una vez. Y es esto lo que nosotros llamamos TSH de rata.

Todas las diluciones precisas de cada uno de los reactivos del radioinmuno método, incluido el EDTA (sol. 0,1 M), se hacen con buffer 0,01 M fosfato, 0,15 M de ClNa con el 2 por 100 de suero normal de cobaya y con azida sódica al 1 por 100. Cuando usamos para separar el complejo el procedimiento del carbón-Dextrano (150) sugerido por el doctor Brian Webster, en vez del método del segundo anticuerpo, el buffer diluyente empleado es similar al descrito, pero conteniendo, en vez del 2 por 100 de suero normal de cobaya, 0,1 por 100 de albúmina bovina y el 2,5 por 100 de suero de caballo.

Se emplean tubos de fondo redondo de $0,9 \times 80$ cm. y todo el procedimiento, incluido el período de incubación y filtraje, se hace en frío. Todos los tubos (tres para cada muestra) llevan 0,1 ml. de EDTA 0,1 M. Todos, menos los «blancos», tienen 0,1 ml. del antisuero a la dilución apropiada, hecha justo antes de ponerlo; los «blancos» contienen 0,1 ml. del buffer diluyente. Los «ceros» (que no tienen TSH frío) llevan 0,1 ml. de este mismo buffer, y el resto de los tubos tienen 0,1 ml. de B-TSH o de TSH de rata patrón a diferentes diluciones, o 0,1 ml. de las sustancias a valorar. Cuando estas sustancias a valorar son plasmas se añaden otros 0,1 ml. de buffer a dichos tubos, mientras que a toda la curva Standard, incluidos los «blancos» y los «ceros», se le pone 0,1 ml. de plasma de ratas que estuvieron durante 2-3 semanas alimentadas con polvo de tiroides en la dieta (1/4 de un comprimido de Proloid por rata cada día) con el fin de disminuir al máximo el TSH plasmático de dichas ratas.

Después de mezclar bien todos estos reactivos, los tubos se incuban a 4° C. durante 24 horas, al cabo de las cuales se añade 0,1 ml. de B-TSH * recientemente purificado por Sephadex G-100 diluido de tal forma que cada 0,1 m. de la dilución tenga 10.000-15.000 c./min. Se dejan de nuevo a 4° C. durante dos días y se añaden, entonces, 0,1 ml. de un suero antigamma globulina de cobaya a cada tubo. Después de una última incubación durante 24 horas a 4° C. se filtra el contenido de cada tubo a través de placas de Oxoid o de fibra de vidrio de Whatman (GF/C) lavando el filtro dos veces con un buffer que tiene el 2 por 100 de albúmina bovina (43, 44). Los filtros se cuentan en un contador

Autogamma (Packard) con el «setting» apropiado para el isótopo con el que estaba marcada la hormona.

Si se usa el procedimiento del carbón-Dextrano, el período de incubación después de añadir el B-TSH * es de 3-4 días. La suspensión del carbón se prepara mezclando volúmenes iguales de una solución de Dextrano 150 (Pharmacia, Upsala) al 0,5 por 100 en buffer fosfato con ClNa con una suspensión de carbón al 5 por 100 también en dicho buffer. Se agita durante 15 minutos y se continúa agitando mientras se añaden 2 ml. de dicha suspensión final a cada tubo; después de media hora de incubación a temperatura ambiente, se centrifuga y se cuentan alícuotas de cada sobrenadante, que es donde está la parte de B-TSH * ligada al anticuerpo.

Al montar el radioinmuno método usamos el antisuero diluido entre 1 : 1500 y 1 : 2500 como sugerían Lemarchand-Béraud y Vannotti (43, 44). Pero después de una titulación del antisuero, lo usamos diluido inicialmente a 1 : 25000 (figura 7).

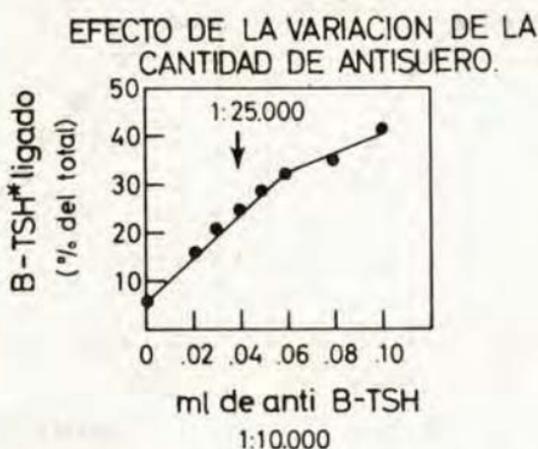


FIG. 7. Curva obtenida con diluciones crecientes de antisuero y manteniendo constante la concentración de B-TSH.

La figura 8 muestra los primeros resultados obtenidos frente a TSH bovino Standard y frente a nuestra Standard de TSH de rata. Existe desplazamiento en los dos casos, que es menos en el caso de TSH de rata, lo que era de esperar por aprovechar para ello una reacción cruzada. Ahora bien, se mejoran los resultados cuando se usa B-TSH * recientemente purificado por Sephadex G-100 (observar que los índices de precisión del ensayo

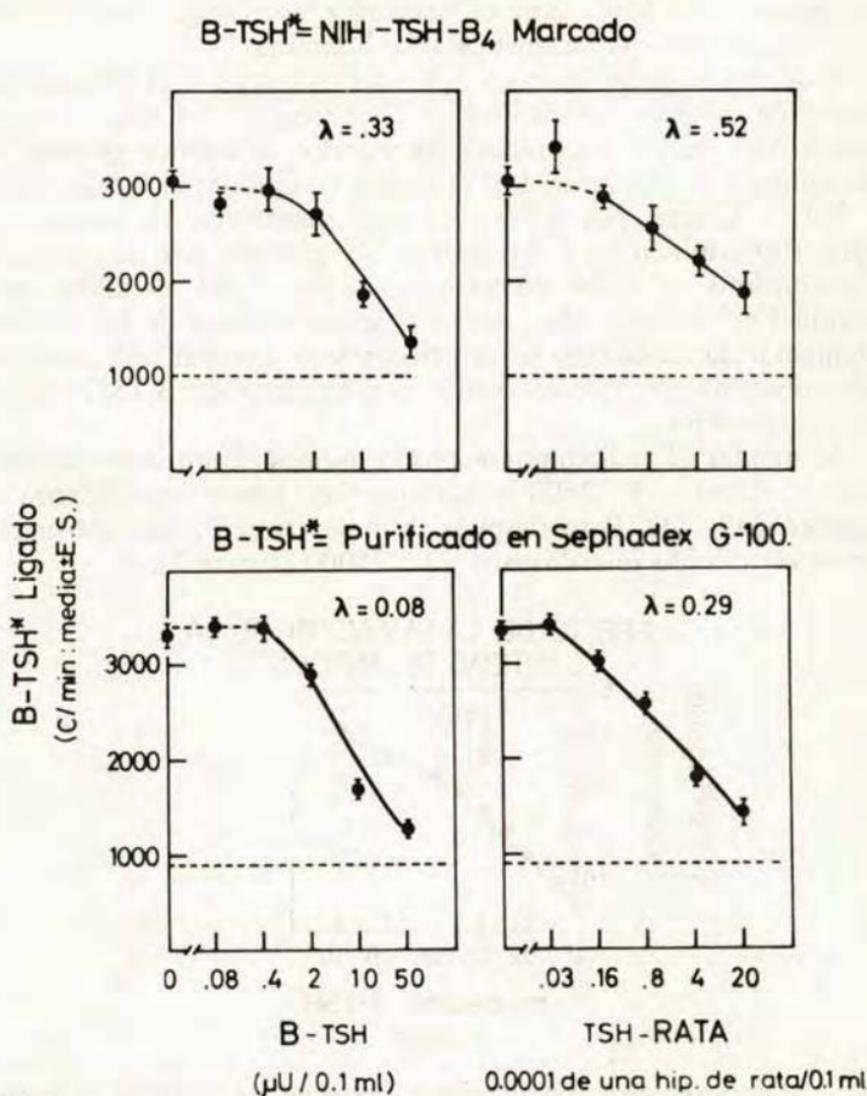


FIG. 8. Curvas patrón de radioinmuno método con cantidades crecientes de B-TSH y TSH de rata, sin purificación de NIH-TSH-B₄ marcada (la parte superior) o después de su purificación a través de Sephadex G-100 inmediatamente antes de su uso (mitad inferior). La purificación mejora notablemente la λ del ensayo.

han mejorado sensiblemente de la parte alta de la curva a la parte baja).

Las figuras 9 y 10 muestran los resultados típicos obtenidos

CROMATOGRAFIA EN CM-C

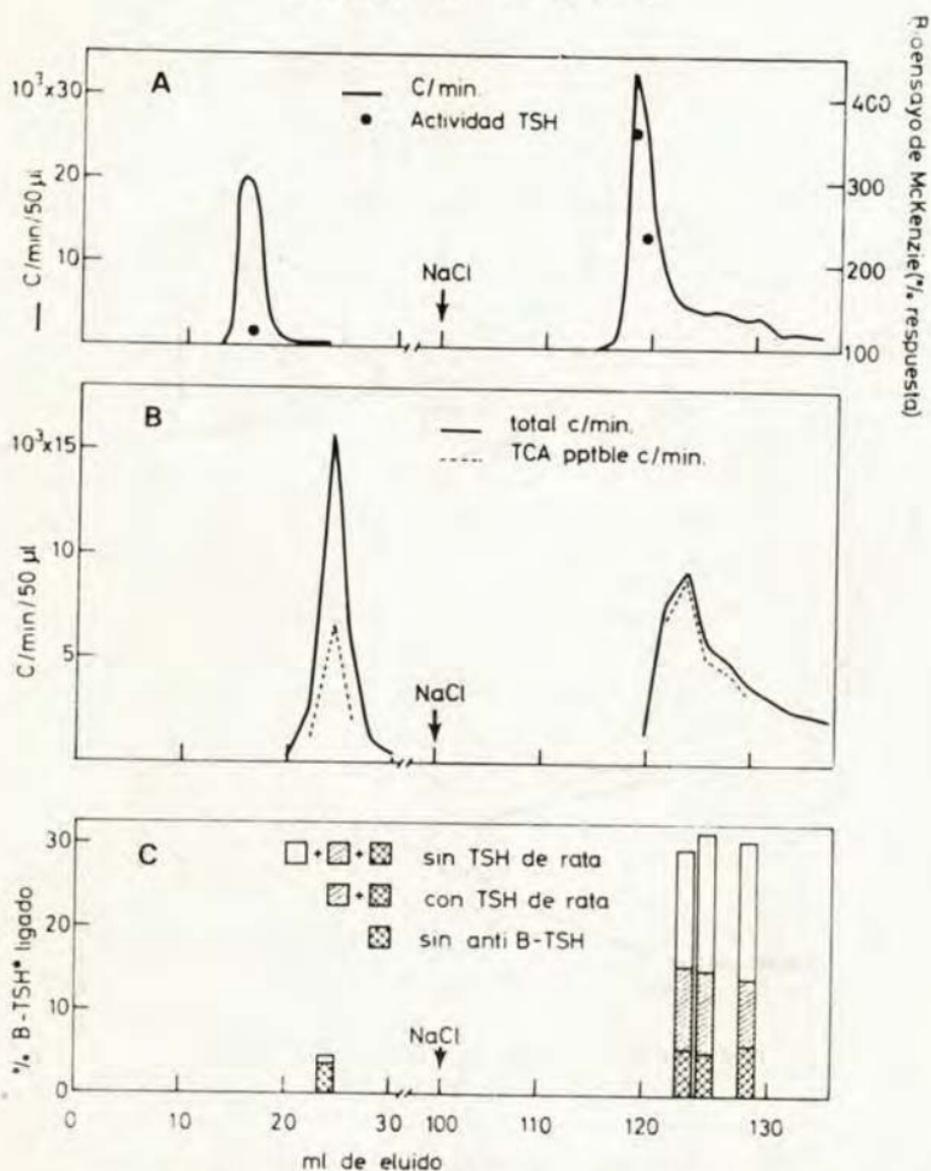


FIG. 9. Purificación de TSH en CM-C. A) B-TSH (1 vial de Thytropai) al que habían sido añadidas cantidades trazas de B-TSH* antes de la cromatografía. La actividad biológica se probó con un bioensayo McKenzie inyectando 0,125 ml. de una dilución 1:8 de cada eluido por ratón. B) La misma B-TSH* que en A) sin adición de B-TSH «frío». C) Se prueba la actividad inmunológica de los eluidos de B frente a antisuero anti-B-TSH en presencia y ausencia de TSH de rata. Para ello se usa el antisuero diluido 1:25000 frente a 0,1 ml. de cada eluido diluido hasta 15000 ctas./min. y 0,1 ml. de TSH de rata (0,001 parte de hipófisis). Los resultados son buenos empleando B-TSH* del pico eluido con gradiente del ClNa.

SEPHADEX G-100

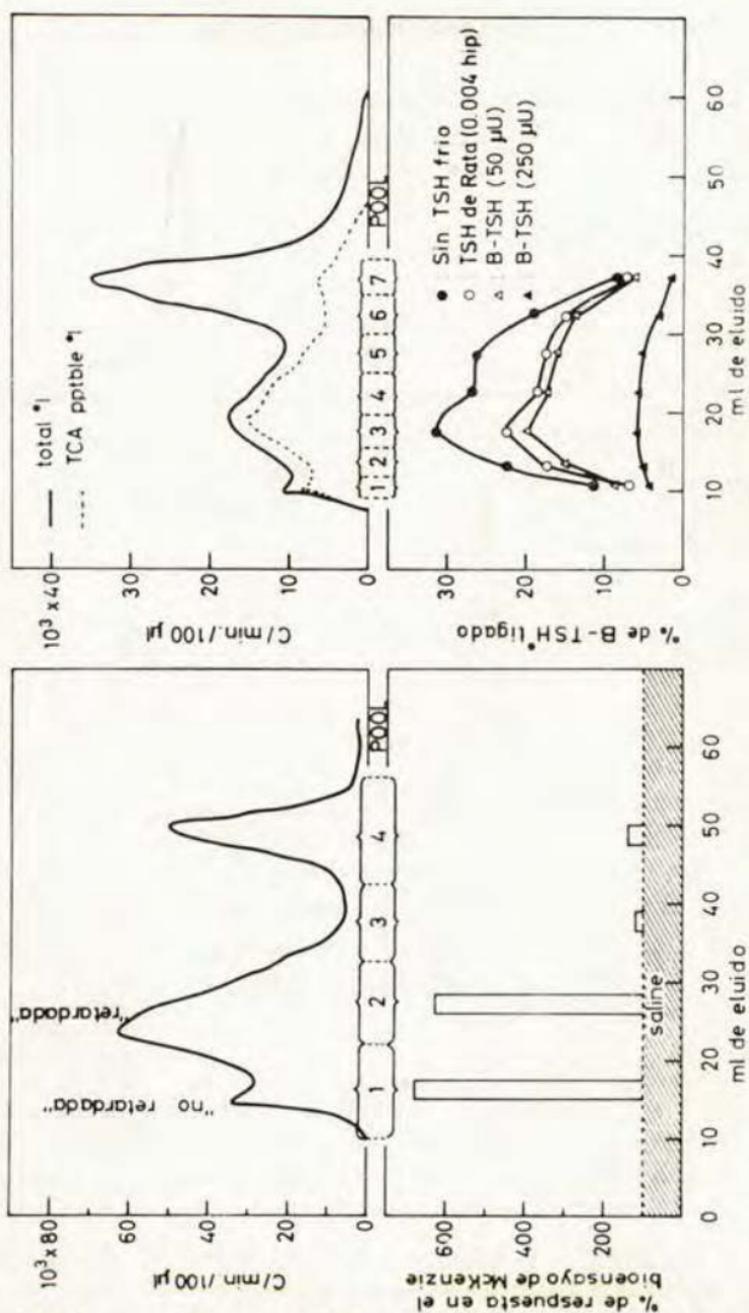
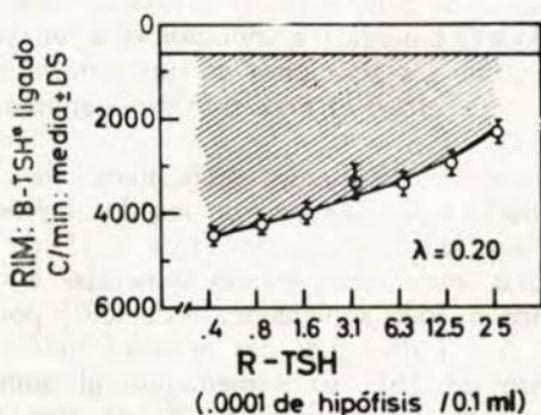


FIG. 10. Elución en Sephadex G-100 de 0,05 ml. de NIH-TSH-B₄ marcada mezclada con 2 ml. de TSH de rata que contenía el equivalente a 2 hipófisis (parte izquierda) y de 0,2 ml. de la misma B-TSH* sin adición de R-TSH «frio» (parte derecha). La actividad biológica se prueba en un bioensayo de McKenzie inyectando 0,125 ml. de eluido/ratón. La actividad inmunológica se probó en ausencia y presencia de R-TSH y de B-TSH. Los mejores resultados corresponden a la parte descendente del segundo pico (proteína retardada).

al purificar B-TSH * en columna de CM-C o de Sephadex G-100. La actividad biológica de cada uno de los picos se probó haciendo un McKenzie y la actividad inmunológica por medio de un radioinmunoensayo. Se puede observar dónde están localizadas ambas propiedades, biológica e inmunológica, en cada uno de los eluidos, así como las fracciones en que coinciden el máximo de unión del antisuero y el máximo desplazamiento por el TSH de rata.

La figura 11 ilustra los resultados preliminares de una valoración simultánea hecha con cada uno de los dos métodos, bioensayo de McKenzie y radioinmunométodo de TSH, de los mismos plasmas de ratas que habían estado sometidas a un tratamiento a dieta pobre en iodo suplementado del 0,05 por 100 de PTU durante 0, 2, 5 y 7 días. Los dos métodos indican que el contenido plasmático de TSH va aumentando al aumentar la duración del tratamiento con antitiroideos. Ahora bien, mientras que el radioinmunométodo detecta diferencias estadísticamente significativas entre grupos consecutivos, los valores obtenidos con el bioensayo de McKenzie son diferentes solamente entre 0 y 5 días y entre 0 y 7 días de tratamiento a PTU.

CURVA PATRON RIM.



VALORACION DE PLASMA DE RATAS.

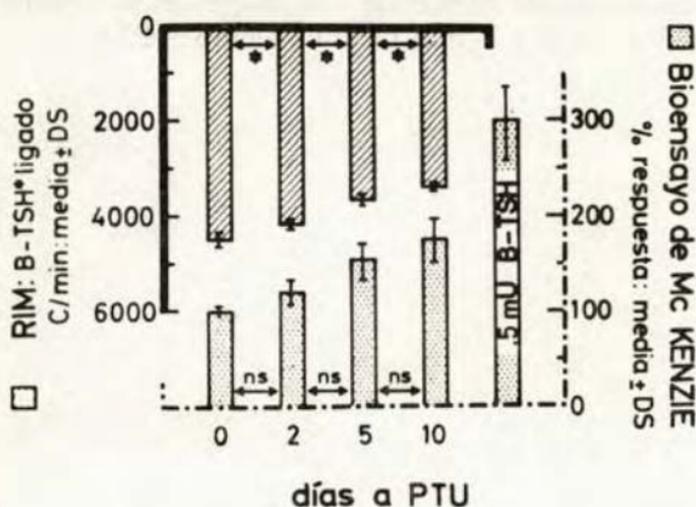


FIG. 11. Plasmas de ratas alimentadas con dieta pobre en yodo y a PTU durante 0, 2, 5 y 7 días (5 ratas/grupo) se prueban en un McKenzie y en un inmunómetro. Se inyectan 0,2 ml. plasma/ratón. Se usa TSH* purificado inmediatamente antes de usar.

RESULTADOS

Ya se sabía (pág. 219 y siguientes) que el hipotiroidismo extremo va acompañado de un estado endocrino semejante al que acompaña a una adenohipofisectomía en cuanto se refiere a todas las hormonas de la adenohipófisis menos el TSH; la banda correspondiente a la GH desaparece de los geles de poliacrilamida y la insulina baja a niveles muy inferiores a los normales. Pero todo este cuadro cambia con sólo administrar al animal pequeñas dosis de $L-T_4$ durante 10-20 días: suben los valores de insulina plasmática, empieza a crecer el animal, reaparece la banda de GH en hipófisis y el tiroides aumenta de tamaño. Estos datos podrían interpretarse de dos maneras:

a) que la inyección de pequeñas dosis de T_4 a animales intensamente hipotiroideos ocasione un aumento de los niveles de TSH en plasma, y

b) que dicha inyección no aumente los valores de TSH, pero sí los de otras hormonas (GH, insulina), permitiendo esto una mayor respuesta del tiroides a un mismo nivel de TSH.

Para poder dilucidar entre ambas interpretaciones hicimos los experimentos siguientes:

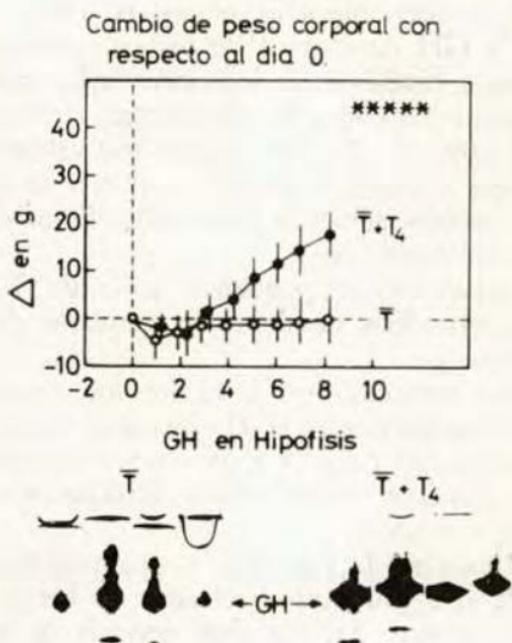
Experimento número 1: Las ratas se mantienen a dieta pobre en iodo y ClO_4K al 1 por 100 en el agua de beber desde pocos días después del destete. Treinta días después se las dividió en dos grupos: el grupo I recibió diariamente una inyección de solución fisiológica salina que contenía albúmina bovina al 1 por 100; y el grupo II, 0,8 μg de $L-T_4/100$ gr. de peso y día preparado con el mismo salino con el 1 por 100 de albúmina, durante 30 días.

Veinticuatro horas después de la última inyección, las ratas se sangran todo lo posible. El tiroides se pesa y se guarda congelado hasta que se use para determinar I^{127} . Las hipófisis de las ratas de cada grupo se mezclan, se lavan dos veces con sacarosa al 40 por 100, se homogenizan, se centrifugan durante 20-30 minutos a 1.500 r. p. m., y el sobrenadante se guarda

a -20°C para hacer electroforesis en gel de poliacrilamida. Los plasmas se guardan congelados a -20°C para hacer determinaciones de PBI, insulina, TSH, etc.

La L-T_4 inyectada hace aumentar el tamaño de los tiroides significativamente, y lo mismo ocurre con los valores de insulina y PBI plasmáticos. La banda correspondiente a la GH hipofisaria inicia también su aparición en los geles de poliacrilamida. El TSH aumenta asimismo, aunque no obtuvimos diferencias significati-

EFFECTO DE L-T_4 SOBRE EL CRECIMIENTO Y LA GH HIPOFISARIA.



\bar{T} = Ratas tiroidectomizadas.

$\bar{T} + T_4$ = Ratas tiroidectomizadas + L-T_4 .

Fig. 12. Cambios de ratas \bar{T} que habían estado tratadas con salino o con $0,2 \mu\text{g}$ de $\text{L-T}_4/100$ gr. de peso y día durante 8 días.

vas entre los valores correspondientes a los plasmas del grupo I y el grupo II.

Experimento número 2: Se lleva a cabo otro experimento con ratas tiroidectomizadas. Un mes después de la tiroidectomía, y durante 9 días, se les administra 0,2 μ g de L-T₄/100 gr. de peso y día, mientras que a las controles se les administra sólo salino. La figura 12 muestra el aumento de peso de los animales sometidos a la inyección diaria de L-T₄ frente a los que no lo recibieron. La banda de GH hipofisaria en los geles de poliacrilamida es, asimismo, más intensa en las ratas que habían estado tratadas con T₄ que las que sólo habían recibido salino.

La tabla 3 resume los resultados de este experimento: aumenta el PBI plasmático y el contenido de insulina de las ratas que habían recibido L-T₄. Y aumenta también el contenido de TSH en los plasmas de ratas que habían estado sometidas al tratamiento con hormona tiroidea.

Estos experimentos, aunque muy preliminares, confirman lo que habíamos dicho anteriormente: en caso de animales *muy hipotiroideos*, bien por tiroidectomía quirúrgica o por tiroidectomía química, la administración de pequeñas dosis de L-T₄ provoca un incremento en el peso del cuerpo de estos animales. También el PBI y la insulina plasmáticos aumentan, y aparece, en los geles de poliacrilamida, la banda correspondiente a la GH hipofisaria. El tiroides, en el caso de animales con tiroidectomía química, también aumenta de tamaño. Esto hizo pensar en un aumento del TSH plasmático, y los valores, *muy preliminares*, como hemos dicho, aquí expuestos, parecen confirmar esta hipótesis.

TABLA 3

Diferencias entre los pesos iniciales y finales del cuerpo y valores del PBI, insulina y TSH plasmáticos de las ratas del experimento 12 que habían sido tiroidectomizadas e inyectadas diariamente con salino o con 0,2 μ g de L-T₄/100 gr. de peso durante 8 días.

Los valores indicados son las medidas \pm DS y el número de animales de cada grupo está entre paréntesis.

	salino (9)	L-T ₄ (9)
Diferencia entre peso inicial y final (gr.)	1,5 \pm 1,9	22,8 \pm 3,7
PLASMA		
PBI (μ g/100 ml.)	0,2	0,69
Insulina (μ U/ml.)	19,6 \pm 5,1	24,2 \pm 3,1
TSH (μ U/ml.) en radioinmunométodo	20	48

BIBLIOGRAFIA

- 1 Nièpce, B.: *Traité du goître du crétinisme*. París, 1851.
- 2 Hoskin, R. G.: «J. Clin. Endocrinol.», 9, 1429, 1949.
- 3 d'Angelo, S. A.: «Brookhaven Symposia in Biology», 7, 40, 1955.
- 4 Astwood, E. B.; Sullivan, I.; Bissell, A., y Tyslowitz, R.: «Endocrinol.», 32, 210, 1943.
- 5 d'Angelo, S. A., y Traum, R. E.: «Anuals New York Acad. Sciences», 72, 232, 1958.
- 6 Simpson, M. G.; Asling, C. W., y Evans, H. M.: «Yale J. of Biol. and Med.», 1, 1950.
- 7 Purves, H. D., y Griesbach, W. E.: «Brit. J. Exp. Pathol.», 27, 170, 1945.
- 8 Contopoulos, A. N., y Konell, A. A.: «Acta endocrinológica», 42, 275, 1965.
- 10 Jolin, T.; Morreale de Escobar, G., y Escobar del Rey, F.: «Endocrinology», 83, 620, 1968.
- 11 Mitchell, W. D.: «Clin. Chim. Acta», 10, 96, 1964.
- 12 Hales, C. N., y Randle, P. J.: «Biochem. Journal», 88, 137, 1963.
- 13 McKenzie, J. M.: «Endocrinology», 63, 372, 1958.
- 14 Kirkham, K. E.: «J. Endocrinology», 25, 259, 1962.
- 15 Mc Kenzie, J. M.: «Recent Progr. in Hor. Res.», 23, 1967.
- 16 García, M. D.: Tesis doctoral, 1963.
17. Rerup, S., y Melander, S.: «Acta endocrinol.», 50, 177, 1965.
- 18 Levy, McGuire, Shaw y col.: «Endocrinology», 76, 890, 1965.
- 19 Herra, E.; Escobar del Rey, F., y Morreale de Escobar, G.: «Acta Endocrinológica» (Copenhague), 59, 529, 1968.
- 20 Inoue, K., y Taurog, A.: «Endocrinol.», 83, 279, 1968.
- 21 Lamas, L, y Morreale de Escobar, G.: «3rd Annual Meeting of the European Thyroid Association». Atenas, mayo, 1969.
- 22 Postmes, T.: Tesis doctoral. Universidad de Utrech, 1966.
- 23 Middlesworth, L. V.: «Endocrinol.», 84, 375, 1969.
- 24 Mouriz, J.; Morreale de Escobar, G., y Escobar del Rey, F.: «Endocrinol.», 79, 757, 1966.
- 25 Bowers, C. Y.; Lee, K. L., y Schally, A. V.: «Endocrinol.», 82, 75, 1968.
- 26 Furth, E. D.; Rathbun, D., y Posillico, J.: «Endocrinol.», 85, 592, 1969.
- 27 Zack, B.; Villard, H. H., y Myers, G. B.: «Anal. Chem.», 24, 1345, 1952.
- 28 Benotti, J., y Benotti, N.: «Clin. Chem.», 9, 40, 1963.
- 29 Hales, C. N., y Randle, P. J.: «Biochem. Journal», 88, 137, 1963.
- 30 Felber: «Exper.», 19, 227, 1963.

- 31 Uttiger, R. D.; Odell, W. D., y Condliffe: «Endocrinol.», 73, 359, 1963.
- 32 Levy, McGuire y Heideman: *Program 43 Meeting the Endocrinol. «Society. Abst.»*, 50.
- 33 Aline, M. J.; Selenkow, H. A., y Brooke, M. S.: «Endocrinol.», 67, 273, 1960.
- 34 Pascassio, F. M., y Selenkow, H. A.: «Endocrinol.», 1962.
- 35 Stavitsky, A. B.: «J. of Immunology», 72, 360, 1954.
- 36 Stavitsky, A. B.: *Hemagglutination and hemagglutination inhibition in Immunological Methods*. Symposium organizado por CIOMS, Blackwell, Scientific Publications, Oxford.
- 37 Boyden, S. V.: «J. Exp. Med.», 93, 107.
- 38 Selenkow, H. A.; Pascassio, F. M., y Aline, M. J.: «Ciba Foundation Cool on Endocrinology», 14, 248, 1962.
- 39 Bechhold, H.: *Strukturbuilding in Gallerte*, «Z. Phys. Chem.», 52, 185, 1905.
- 40 Ouchterlony: *Difusion in gel methods for immunological analysis*, «Prog. Allergy», 5, 1958.
- 41 Ouchterlony: *Gel diffusion Techniques, in Immunological Methods*, Symposium organized por CIOMS, Blackwell, Scientific Publications, Oxford.
- 42 Greenwood, A. C., y Hunter, W. M.: «Biochem. J.», 89, 114, 1963.
- 43 Lemarchand-Béraud, Th., y Vannotti, A.: En Cassano, C., y Andreoli, M. (ed.): *Current Topics in Thyroid Research*, Academic Press, Nueva York, p. 527, 1965.
- 44 Lemarchand-Béraud, Th., y Vannotti, A.: «Experientia», 21, 353, 1965.
- 45 Condliffe, P. G.; Bates, R. W., y Fraps, R. M.: «Biochim. and Biophys. Acta», 34, 430, 1959.
- 46 Berson, S. A., y Yalow, R. S.: «Ciba Foundation», 14, 182, 1962.
- 47 Berson, S. A., y Yalow, R. S.: *Diabetes Supplement*. «Excerpta Medica Foundation». Amsterdam, 1969.
- 48 Uttiger, D. En Cassano, C., y Andreoli, M. (ed.): *Current Topics in Thyroid Research*. Academic Press. Nueva York, p. 513, 1965.
- 49 Rosselin, G.; Assan; Yalow, R. S., y Berson, S. A.: «Nature», 212, 355, 1966.
- 50 Herbert, V.; Gohlieb, Ch. W., y Bleicher, Sh. J.: «J. Clin. Endocr.», 25, 1375, 1965.
- 51 Wool, M. S., y Selenkow, H. A.: «Acta endocrinol.», 57, 109, 1968. en el 3rd Annual Meeting», Atenas, 26-31, mayo, 1969.
- 52 McHardy-Young, G., y Kriss, J. P.: «Comunicación científica presentada en el 3rd Annual Meeting», Atenas, 26-31, mayo, 1969.
- 53 Odell, W. D.; Wilber, J. F., y Paul, W. E.: «Metabolism.», 14, 465, 1965.
- 54 Odell, W. D.; Wilber, J. F., y Paul, W. E.: «J. Clin. Endocr. Metab.», 25, 1179, 1965.
- 55 Morgan, C. R.; Sörensen, R. L., y Lazarow, A.: «Diabetes», 13, 579, 1964.
- 56 Odell, W. D., y Wilber, J. F.: «Recent Progress in Hormone Res.», 23, 1967.

REGULACION DE LA FOSFOFRUCTOKINASA
DEL MUSCULO

por la Doctora Pilar Llorente Rodríguez

COLECCIÓN DE LA BIBLIOTECA NACIONAL
DEL MEXICO
CALLE DE LA FLORES 655, MEXICO D.F.

ABREVIATURAS

- AMP = Adenosín monofosfato.
ADP = Adenosín difosfato.
ATP = Adenosín trifosfato.
F1P = Fructosa-1-fosfato.
F6P = Fructosa-6-fosfato.
FDP = Fructosa-1,6-difosfato.
PKF = Fosfofructokinasa.
Pi = Fósforo inorgánico.
ITP = Inosín trifosfato.
NORIT = Carbón animal purificado.

INTRODUCCION

Durante los últimos años numerosos trabajos han aportado resultados que muestran la importancia de la fosfofructokinasa en la regulación de la glicolisis (1-5).

La fosfofructokinasa cataliza la fosforilación de fructosa-6-fosfato por adenosín trifosfato para producir fructosa-1,6-difosfato y adenosín difosfato:



Esta reacción es irreversible y las propiedades cinéticas de la fosfofructokinasa indican cómo su actividad es regulada alostéricamente por una serie de metabolitos que pueden actuar sobre el enzima como activadores, inhibidores y efectores capaces de contrarrestar esta inhibición (6-10). Según una reciente revisión hecha por Sols (11), uno de los sustratos del enzima, el ATP, que a determinadas concentraciones actúa como donador de fósforo en la reacción catalizada por el enzima, a concentraciones más altas es inhibidor de su actividad, presentando el enzima áreas ligantes independientes para el nucleótido en sus funciones de sustrato y de inhibidor. Otro inhibidor de la PFK es el citrato, que como el ATP es producto final de la glicolisis aerobia. Desinhibidores específicos para el enzima son: Pi, AMP y F6P, y como análogos del AMP también pueden desinhibir al enzima el ADP y el 3'-5'-AMP.

En mamíferos la sensibilidad a estos efectores varía, al menos cuantitativamente, en los diferentes tejidos, dependiendo de los requerimientos celulares.

La fosfofructokinasa muscular, cuyas propiedades cinéticas en determinadas condiciones fisiológicas han sido objeto de estudio en este trabajo, tiene unas características ampliamente expuestas en la memoria presentada para optar a esta Beca:

Por los trabajos de Lardy (12, 13), Parmeggiani y Krebs (14) y Rosenberg (15) se sabe que el enzima está formado por, al

menos, cuatro subunidades que pueden presentar diferentes estados de agregación, sobre las que, *in situ*, influyen diversos factores, siendo los principales conocidos dilución, el pH y algunos de los compuestos, que son sustratos o efectores del enzima. Mansour (16), en sus estudios con PFK de corazón de cobaya, también ha sugerido la dependencia del pH de los estados de agregación, y puesto que en el músculo, preferentemente a otros tejidos, la variación del pH intracelular es muy marcada por acumulación del ácido láctico, nos pareció de gran interés estudiar la cinética de la PFK muscular para estos efectos a distintos valores de pH (6,6 — 7,0 y 7,4) que abarcan ampliamente la zona fisiológica en las distintas situaciones de la glicolisis del músculo.

La primera parte del trabajo se realizó utilizando extractos crudos de músculo de conejo y en condiciones lo más similares posible a las fisiológicas: concentración alta de enzima, iones K^+ , y zona de pH de 7,4 a 6,6, obtenidas con ácido láctico como acidificante. Para poder trabajar en estas condiciones experimentales, dilución mínima del extracto y concentraciones fisiológicas de sustratos, ha sido necesaria una preparación especial del extracto, eliminando los nucleótidos, principalmente ATP y AMP, que a la concentración de extracto utilizada en la valoración del enzima se encuentran en cantidad suficiente para actuar como efectores interfiriendo en los resultados.

Puesto que el análisis de ciertos datos de la cinética y el mecanismo de acción del enzima sólo los puede suministrar el enzima purificado, en la segunda parte del trabajo se hizo un estudio comparativo de la respuesta del enzima, purificado por dos procedimientos diferentes, ante sus efectores en condiciones análogas a las empleadas con los extractos crudos, permitiéndonos conocer si las operaciones de purificación afectan a la estructura cuaternaria y, por consiguiente, a la conducta cinética del enzima.

METODOLOGIA

OBTENCIÓN DE EXTRACTOS

Conejos adultos, hembras, de aproximadamente 2 kg. de peso, se anestesiaron con 200-500 mg. de Nembutol inyectado en la zona marginal de la oreja *. Cuatro minutos después se decapitaban y sangraban. Inmediatamente se separaba el músculo de las patas delanteras y traseras; cortado en pequeños trozos se introducía en hielo durante 15 minutos, y seguidamente se pesaba y homogeneizaba en una Turmix a 5° C. durante 30 segundos, con 1,5 vol. de un medio formado por glicilglicina-fosfato 50 mM, EDTA 1 mM y SO₄Mg 2 mM, pH 7,4. Después se añadían sobre el homogenado 2 vol. del mismo medio y se homogeneizaba de nuevo durante otros 45 segundos, a la misma temperatura. El homogenado final se centrifugaba a 10.000 r. p. m. durante 30 minutos a 0° C.

El pH del sobrenadante era medido y cuidadosamente ajustado al pH en que se iba a realizar el estudio del enzima. Valores superiores a los del extracto se obtenían por adición (en frío y agitando continuamente) de PO₄HK₂ 1 M, y para valores bajos de pH se añadía al extracto, de la misma forma, ácido láctico 0,5 M.

ELIMINACIÓN DE NUCLEÓTIDOS DEL EXTRACTO

El extracto llevado al pH deseado (6,6 — 7,0 y 7,4) se dializaba durante 3 horas, a 5° C., frente a una solución de glicilglicina 5 mM, EDTA 0,1 mM, SO₄Mg 0,2 mM y ClK 0,1 M, con el mismo pH del extracto.

* En nuestro laboratorio hemos encontrado muy poca actividad en la PFK de extractos de músculo de conejos decapitados sin previa anestesia cuya muerte en estas condiciones va acompañada de intensas contracciones musculares. En estos extractos el pH era considerablemente bajo.

Después de dializado y ajustado de nuevo el pH, se taponaba el extracto con el medio usado para la extracción (0,3 ml./ml.). El extracto tamponado se trataba con Norit (30 mgr./mgr.) durante 15 minutos a 5° C, agitando magnéticamente. La suspensión se centrifugaba durante 15 minutos a 10.000 r. p. m. El tratamiento se repetía 3 veces. En el extracto así preparado se medía actividad de fosfofructokinasa.

PURIFICACIÓN DEL ENZIMA

Los estudios con enzima purificado se hicieron en dos preparados diferentes, uno comercial de Boehringer, y otro obtenido en nuestro laboratorio según el método de Krebs y Parmeggiani (14), con algunas modificaciones introducidas por nosotros. El método, brevemente descrito, consta de los siguientes pasos:

1. Obtención del extracto según se ha descrito (sin eliminación de nucleótidos).
2. Precipitación ácida a pH 6,15
3. Disolución del precipitado formado en un tampón de glicerol-fosfato 50 mM, EDTA 5 mM, pH 7,2.
4. Primera centrifugación diferencial a 30.000 r. p. m., durante 90 minutos, en una centrífuga Spinco modelo L.
5. Segunda centrifugación diferencial a 40.000 r. p. m., 4 horas, del sobrenadante obtenido en la primera centrifugación diferencial.
6. Disolución del precipitado en glicerol-fosfato 50 mM, EDTA 2 mM, pH 7,2, para obtener una concentración de proteína de 30-40 mgr./ml.
7. Calentamiento de esta solución a 60° C. durante 2 minutos. Enfriamiento a 0° C. y centrifugación a 10.000 r. p. m., 30 minutos.
8. Precipitación en el sobrenadante de la PFK con $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$ entre 40-50 por 100 de saturación.
9. Centrifugación a 10.000 r. p. m., 30 minutos, y disolución del precipitado en glicerol-fosfato 50 mM, pH 7,2, en cantidad suficiente para obtener una concentración final de proteína del 2,3 por 100.

RESULTADOS

EXTRACTOS CRUDOS

Actividad del enzima con fructosa-1-fosfato

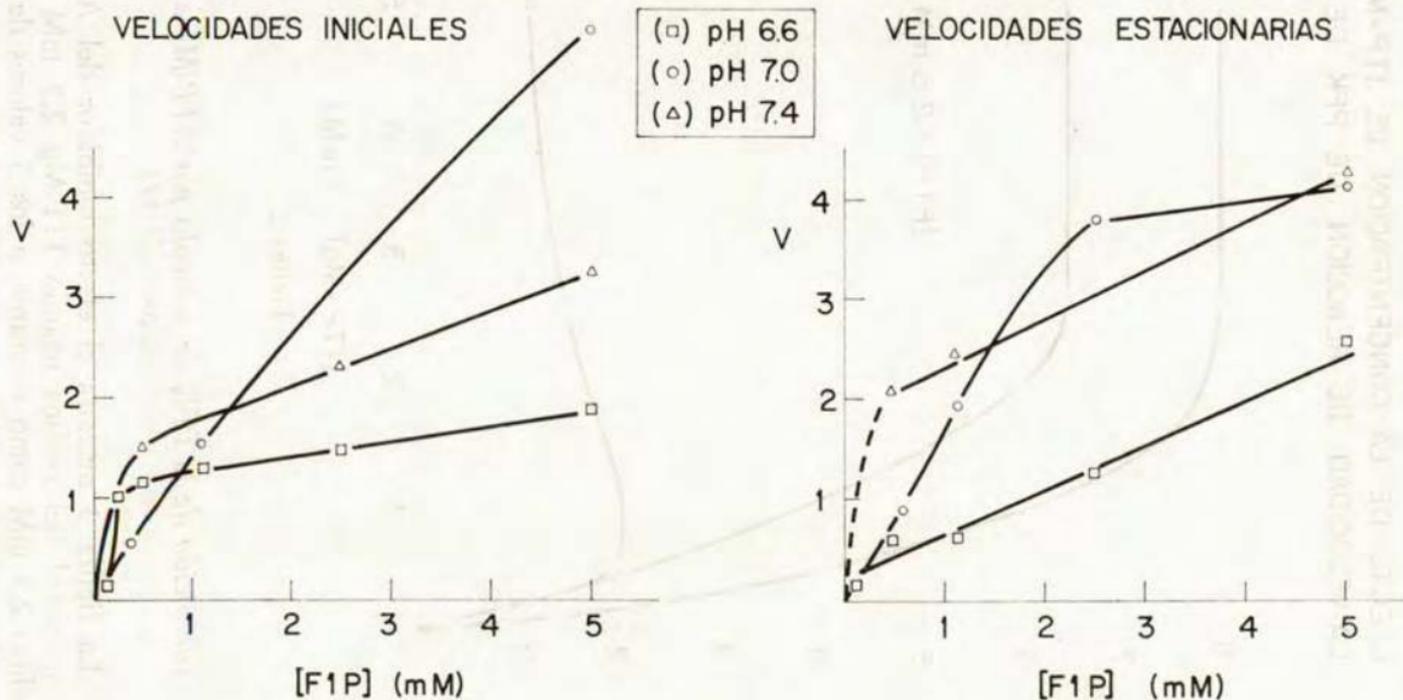
Para poder realizar el estudio cinético del enzima en las condiciones experimentales expuestas (concentración alta de extracto y concentraciones fisiológicas de sustratos) tuvimos que sustituir el sustrato natural de la fosfofructokinasa, fructosa-6-fosfato, por un sustrato análogo, fructosa-1-fosfato, para el cual la actividad del enzima es tan baja que nos permitía enlentecer la reacción para poderla seguir espectrofotométricamente. La figura 1 * muestra las velocidades del enzima, a los distintos pH, con diferentes concentraciones de fructosa-1-fosfato.

Utilización de ITP-Mg como donador de P

Puesto que el enzima presenta para el ATP, uno de sus sustratos, dos áreas ligantes, actuando en una de ellas como sustrato y en la otra como inhibidor, para estudiar el área cinética inhibidora independientemente del área sustrato, sustituimos el ATP-Mg en su función de donador de Pi por el ITP-Mg. En la figura 2 se observa el efecto de la concentración de ITP-Mg sobre la velocidad de reacción de la fosfofructokinasa de músculo a distintos pH.

* Las velocidades obtenidas en las medidas de actividad no eran nunca lineales, observándose siempre un aumento de la velocidad después de los primeros minutos. Hasta tanto podamos conocer el porqué de esta anomalía, que suponemos se debe a cambios de estructura al tomar contacto el enzima con el sistema auxiliar y sustratos, damos dos valores de los resultados, unos correspondiendo a las velocidades iniciales y otros a las finales o estacionarias.

EFECTO DE LA CONCENTRACION DE F1P SOBRE LA VELOCIDAD DE REACCION DE LA PFK DE MUSCULO A DIFERENTES pH



Fundación Juan March

FIGURA 1

EFFECTO DE LA CONCENTRACION DE ITP-Mg SOBRE LA VELOCIDAD DE REACCION DE PFK DE MUSCULO

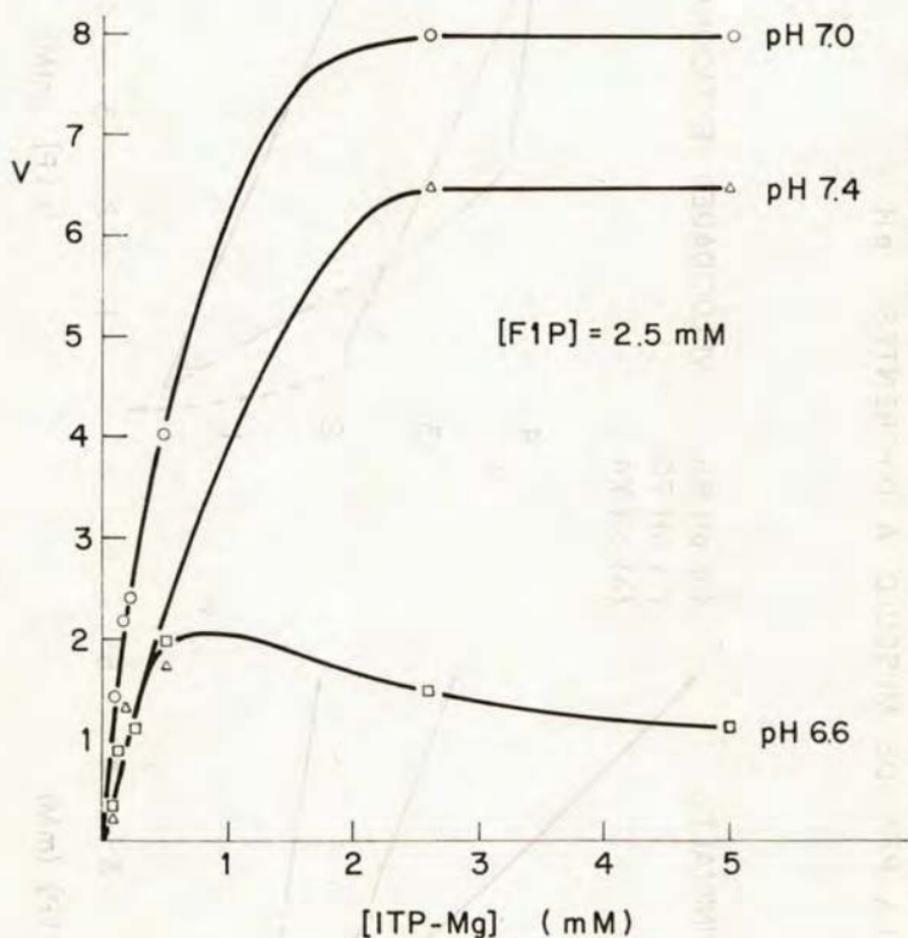


FIGURA 2

Inhibición de la PFK de músculo por ATP-Mg a diferentes valores de pH

La figura 3 muestra el efecto inhibitor del ATP-Mg sobre la actividad del enzima usando ITP-Mg 2,5 mM y fructosa-1-fosfato 2,5 mM como sustratos, a los 3 valores de pH elegidos. A pH 6,6 (el más ácido estudiado), pequeñas concentraciones de

INHIBICION DE LA PFK DE MUSCULO POR ATP
A DIFERENTES VALORES DE pH

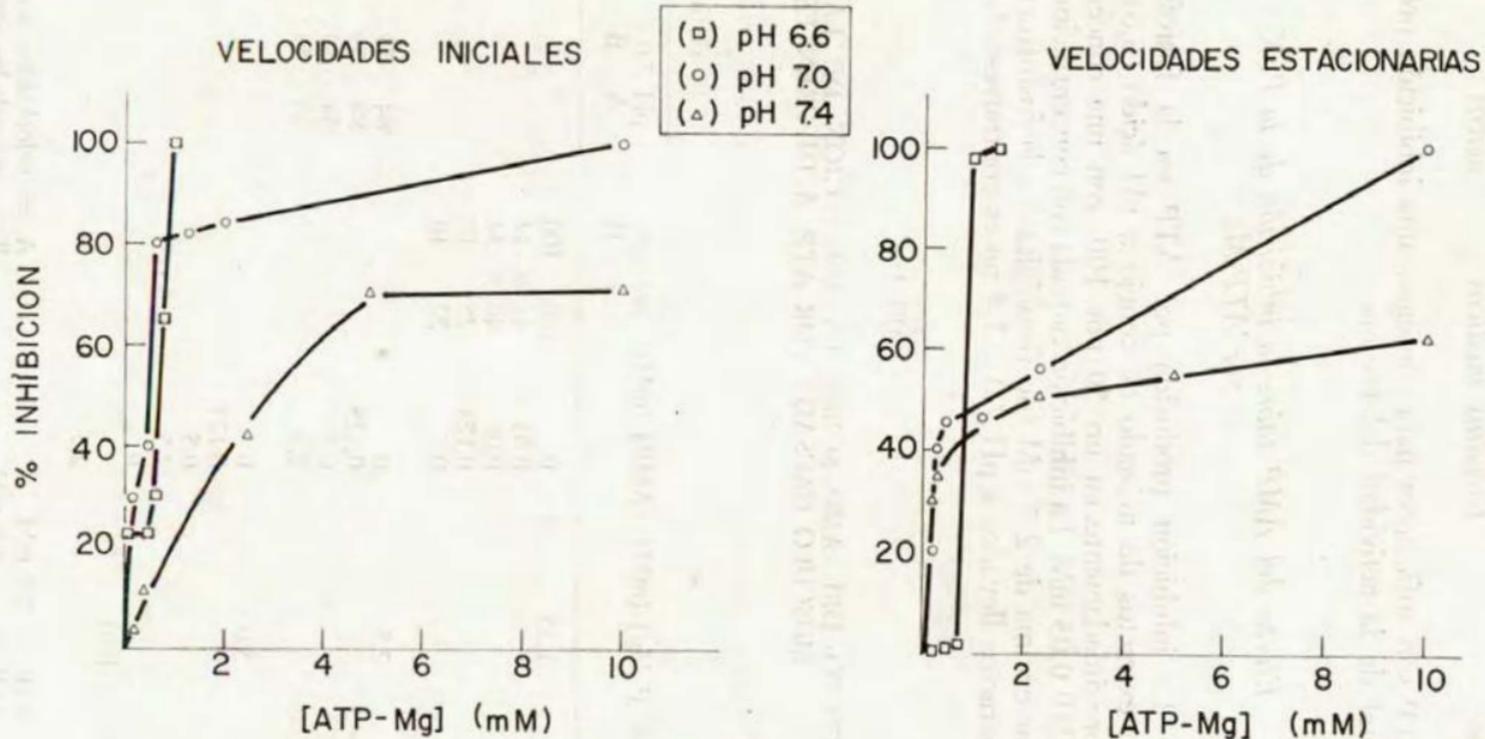


FIGURA 3
Fundación Juan March

ATP son suficientes para conseguir una inhibición prácticamente total de la actividad del enzima.

Efecto del AMP sobre la inhibición de la PFK causada por ATP-Mg

La inhibición producida por ATP en la fosfofructokinasa de extractos de músculo de conejo a pH ácido (6,6) disminuye aproximadamente en un 50 por 100, con una concentración de AMP 0,03 mM. La inhibición causada con concentraciones de ATP por encima de 2,5 mM (no fisiológicas) a la fosfofructokinasa de extractos llevados a pH 7,0 y 7,4 no es contrarrestada por AMP.

TABLA 1

EFFECTO DEL AMP SOBRE LA INHIBICION DE LA PFK DEL MUSCULO CAUSADA POR ATP, A DIFERENTES pH

[ATP Mg] (mM)	[AMP] (mM)	% de inhibición					
		pH 6,6		pH 7,0		pH 7,4	
		A	B	A	B	A	B
1,25	0	100	100				
	0,03	44	34				
	0,06	40	34				
	0,125	25	17				
	0,5	22	10				
2,5	0			84	59		
	0,125			84	59		
	0,5			54	59		
	2,5			36	53		
5,0	0					71	56
	0,125					58	58
	0,5					58	50
	2,5					57	51
	0						
10,0	0					71	61
	2,5					71	60

FIP = 2,5 mM.
ITP Mg = 2,5 mM.

A = velocidades iniciales.
B = velocidades estacionarias.

ENZIMA PURIFICADO

Según se ha expuesto en la Introducción, un estudio similar al realizado con extractos crudos se llevó a cabo con fosfofructokinasa altamente purificada, por dos procedimientos diferentes:

A) Preparado comercial Boehringer.

B) PFK purificada en nuestro laboratorio según el método, modificado, de Krebs y Parmeggiani.

Para utilizar la misma concentración de enzima que en los estudios hechos con extractos crudos, también en este caso sustituimos el sustrato natural del enzima, fructosa-6-fosfato, por su análogo fructosa-1-fosfato, y la cinética del área inhibidora para el ATP se hizo con ITP-Mg como donador de Pi.

En la figura 4 puede verse el efecto de la concentración de ITP-Mg sobre la velocidad de reacción de fosfofructokinasa purificada por los dos procedimientos descritos.

La inhibición producida por ITP-Mg a los tres pH fijados (6,6 — 7,0 y 7,4), usando como sustratos ITP-Mg 2,5 mM y fructosa-1-fosfato 2,5 mM puede verse en la figura 5. El comportamiento del enzima purificado es cualitativa y cuantitativamente semejante al del enzima de extractos crudos, del mismo modo también esta inhibición es contrarrestada por AMP a muy bajas concentraciones (ver Tabla 2).

TABLA 2

EFECTO DEL AMP SOBRE LA INHIBICION DE LA PKF PURIFICADA DE MUSCULO, CAUSADA POR ATP, A DIFERENTES pH

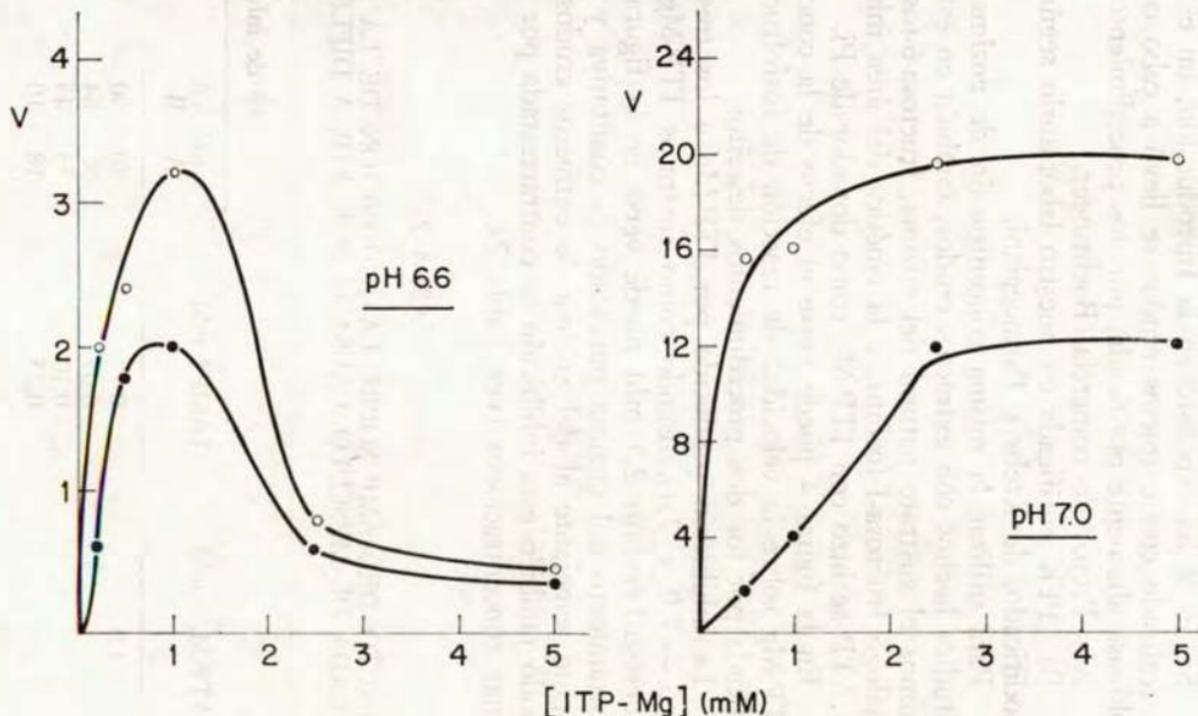
[ATP-Mg] mM	[AMP] mM	% de inhibición			
		pH 6,6		pH 7,0	
		A	B	A	B
1,0	0	80	90		
	0,05	58	64		
	0,10	33	43		
	0,25	18	10		
2,5	0			80	40
	0,10			62	34
	0,25			67	24

A = Purificada por el método de Krebs y Parmeggiani.

B = Preparado comercial Boehringer.

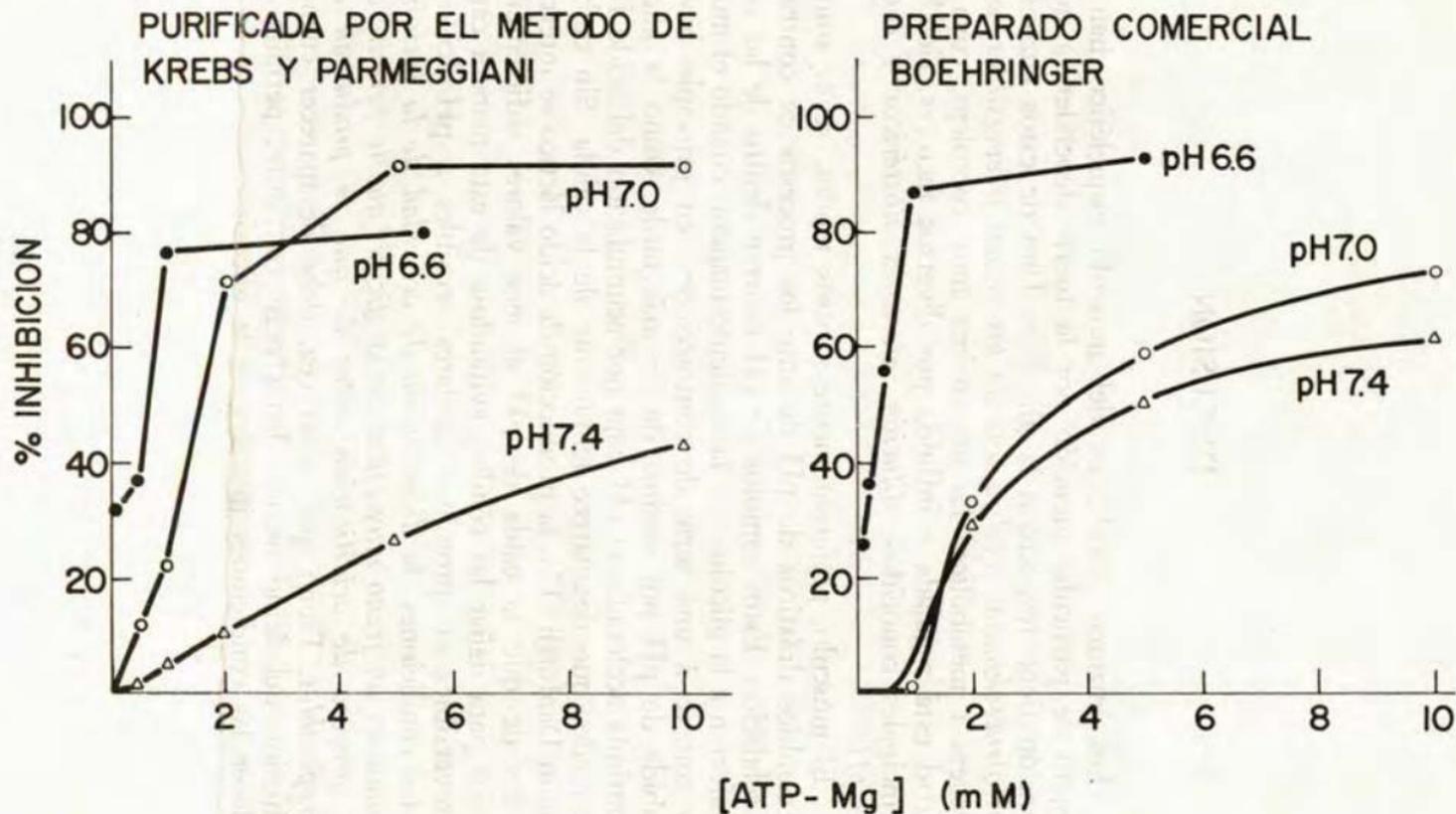
EFFECTO DE [ITP-Mg] SOBRE LA VELOCIDAD DE REACCION DE PFK
PURIFICADA DE MUSCULO DE CONEJO

- PURIFICADA POR EL METODO KREBS Y PARMEGGIANI
- PREPARADO COMERCIAL BOEHRINGER



Fundación Juan March
FIGURA 4

INHIBICION DE LA PFK PURIFICADA DE MUSCULO POR ATP A DISTINTOS pH



Fundación Juan March
FIGURA 5

DISCUSION

Los enzimas glicolíticos del músculo esquelético han sido objeto de particular atención por la fuerte dependencia que su función tiene respecto a la glicolisis. Uno de estos enzimas, la *fosfofructokinasa*, cataliza una de las etapas irreversibles de esta secuencia metabólica. Es un enzima muy complejo, cuya actividad está regulada e influida por diversos factores, siendo los principales conocidos: *dilución, efectores alostéricos y cambios de pH*.

El músculo, preferentemente a otros tejidos, se ve sometido a cambios drásticos de pH durante los procesos de contracción y relajación. Estos cambios de pH ocurren dentro de las células y afectan a la glicolisis de la siguiente manera: cuando el músculo se somete a una serie de contracciones, en principio hay una subida de pH por encima de 7; más tarde, como la glicolisis continúa acelerada, el pH baja por acumulación del ácido láctico formado, que desaparece lentamente de la célula. Sin embargo, según Danforth (17), la producción de ácido láctico se interrumpe antes de que la caída de pH alcance valores suficientemente bajos para dañar las células, evitándose de esta manera cambios irreversibles en proteínas celulares sensibles a pH ácidos; en estas condiciones, la *disminución de actividad de la fosfofructokinasa es un freno muy eficaz de la glicosis que le permite cortar el proceso de acidificación antes de que se produzcan daños irreparables*. Freno que, a su vez, debe desaparecer cuando la difusión del ácido láctico, lenta pero constante, permita restablecer las condiciones iniciales de la glicosis.

Según trabajos de Danforth¹⁷ y Michio Ui¹⁸, la disminución del pH, *in vitro*, aumentaba la inhibición de fosfofructokinasa por ATP.

Por nuestros resultados, obtenidos en condiciones lo más semejantes posibles a las fisiológicas, hemos observado:

La sensibilidad de la fosfofructokinasa de músculo a la inhibición por ATP está fuertemente influida por el pH. A pH

bajo, el del músculo fatigado, bajas concentraciones de ATP ($< 1,0$ mM) son suficientes para conseguir inhibición total de la actividad del enzima. Esta inhibición *hace que la producción de ácido láctico se interrumpa antes de que el pH baje tanto que llegue a dañar las células*. Esta inhibición es reversible, ya que desaparece en presencia de AMP a concentraciones $< 0,05$ mM.

El paralelismo entre los resultados obtenidos con el enzima purificado de la casa Boehringer y los extractos crudos nos permitirá continuar el estudio de aspectos fundamentales de la conducta cinética del enzima.

Las *diferencias cuantitativas*, no cualitativas, encontradas entre el enzima purificado de Boehringer y el obtenido según el método de Krebs y Parmeggiani, explicarían los resultados variables y a veces contradictorios acumulados en la literatura, que se deberían a cambios o alteraciones sufridos por la proteína a lo largo del proceso de purificación.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Assenberg, A. L., y Potter, V. R.: «J. Biol. Chem.», 224: 1115 (1957).
- 2 Newsholme, E. A., y Randle, P. J.: «Biochem. J.», 80: 635 (1961).
- 3 Passonneau, J. V., y Lowry, O. H.: «Biochem. Biophys. Res. Commun.», 7:10 (1962).
- 4 Passonneau, J. V., y Lowry, O. H.: «Biochem. Biophys. Res. Commun.», 19: 3 (1965).
- 5 Uyedak, K., y Racker, E.: «J. Biol. Chem.», 240: 4682 (1965).
- 6 Lowry, O. H., y Passonneau, J. V.: «J. Biol. Chem.», 241: 2268 (1966).
- 7 Ramalah, A.; Hathaway, J. A., y Atkinson, D. E.: «J. Biol. Chem.», 239: 3619 (1964).
- 8 Parmeggiani, A., y Bowman R. M.: «Biochem. Biophys. Res. Commun.», 12: 268 (1963).
- 9 Mansour, T. E.: «J. Biol. Chem.», 238: 2285 (1963).
- 10 Salas, M. L.; Viñuela, E.; Salas, M., y Sols, A.: «Biochem. Biophys. Res. Commun.», 19: 371 (1965).
- 11 Sols, A., en *Carbohydrate Metabolism and its Disorders* (Dickens, F.; Randle, P. J., y Whelan, W. J., eds.), Vol. 1, Academic Press, Londres, 1968, p. 53.
- 12 Paetkan, V., y Lardy, H. A.: «J. Biol. Chem.», 242: 2035 (1967).
- 13 Paetkan, V.; Younahtaw, E. S., y Lardy, H. A.: «J. Mol. Biol.», 33: 721 (1968).
- 14 Parmeggiani, A.; Llist, J. H.; Love, D. S., y Krebs, E. G.: «J. Biol. Chem.», 241: 4625 (1966).
- 15 Odeide, R.; Guilloton, M.; Dupuis, B.; Ravoeuw, D., y Rosenberg, A. J.: «Bull. Soc. Chim. Biol.», 50: 2023 (1968).
- 16 Mansour, T. E.: «J. Biol. Chem.», 240: 2165 (1965).
- 17 Trivedi, B., y Danforth, W. H.: «J. Biol. Chem.», 241: 4110 (1966).
- 18 Ui, M.: «Biochem. Biophys. Acta», 124: 310 (1966).

José Rico Irlés: *Estudios clínico-bioquímicos sobre la enzimopatía por déficit de glucosa-6-fosfato-dehidrogenasa.*

Una investigación llevada a cabo entre un grupo de mil personas residentes en Andalucía Oriental demuestra, por vez primera en nuestro país, que existe como mínimo un 4 por 100 de deficitarios en un enzima específico de los glóbulos rojos, trastorno que les hace especialmente vulnerables a ciertos agentes tóxicos o medicamentosos.

Antonio Rodríguez Torres: *Estudio epidemiológico de las infecciones por virus respiratorio sincitial.*

Una encuesta serológica realizada en una colectividad infantil de Barcelona permitió diagnosticar 47 infecciones por virus respiratorio sincitial y demostrar que dicho agente era el causante de una cuarta parte de todos los procesos respiratorios agudos estudiados en dicha colectividad. Se demuestra asimismo que entre los niños de más de dos años se encuentran, en un 80 por 100 de casos, anticuerpos positivos al virus sincitial.

Francisco Abadía-Fenoll: *Estudio óptico y electrónico de la morfología de la transmisión nerviosa a nivel del sistema nervioso central. Aportaciones con una nueva técnica.*

Gracias a la introducción de nuevas técnicas de estudio con el microscopio óptico y el electrónico se ha podido efectuar un cuidadoso análisis de las estructuras sinápticas del sistema nervioso central y especialmente a nivel de la vía acústica. Esta investigación permite demostrar la existencia de diferencias entre los tipos sinápticos de distintas zonas, así como una considerable uniformidad morfológica dentro de cada región estudiada.

María Dolores García García: *Sinergismo entre las hormonas tirotrópica, somatotropa e insulina en la regulación de la función tiroidea.*

El hipotiroidismo experimental extremo va acompañado de un estado endocrino semejante al de la hipofisectomía. Experiencias efectuadas en ratas demuestran que la administración de pequeñas cantidades de tiroxina incrementa los niveles de otras hormonas, tales como la de crecimiento o la insulina. Este aumento posibilita la mayor respuesta del tiroides a la tirotrópica, cuyos niveles ya eran elevados.

Pilar Llorente Rodríguez: *Regulación de la fosfofructokinasa del músculo.*

La sensibilidad de la fosfofructokinasa muscular a los efectos inhibidores del ATP depende del pH del medio: el descenso del pH provoca una inhibición total de la actividad enzimática. Este hecho explica que la producción de ácido láctico se interrumpa antes de que el pH baje tanto que pueda dañar las células.