

SEGUNDA SESION DE TRABAJOS LIBRES

Presidente honorario: Prof. J. M. Borda

Coordinador: Dr. Eduardo Estrada



Segunda Sesión de Trabajos Libres

TRABAJOS

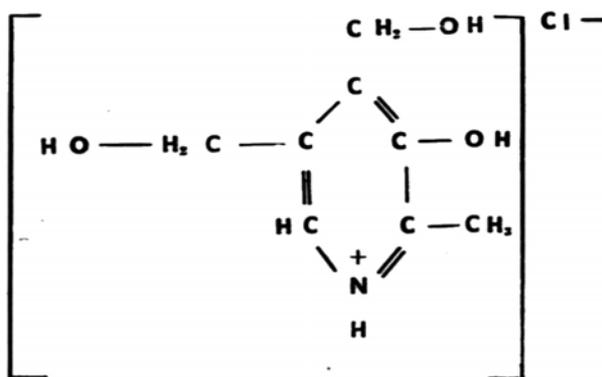
1. LA VITAMINA B6 COMO PROTECTOR SOLAR
Dres. Luis Gómez Carrasquero y Esperanza Herrera
2. LAS FOSFATASAS ALCALINAS EN NUEVA MODALIDAD PARA LA IDENTIFICACION DE VASOS SANGUINEOS
Dres. Imelda Campo-Aasen y Raúl Fachín Viso
3. ALTERACION Y TRANSFORMACION DE CELULAS CULTIVADAS "IN VITRO"
Dres. Ervin Essinfeld, Carlos Cotte y Alejandro Calvo Lairret.
4. ESTUDIO DE LAS VARIACIONES DEL POTENCIAL DE OXIGENO LOCAL DE LA PIEL, MEDIANTE LA TÉCNICA DE IMPLANTACION AGUDA DE ELECTRODOS POLAROGRAFICOS
Dres. Omar Miret O. y Fernando Aguilera
5. NUEVO TRATAMIENTO DE LA BLENORRAGIA AGUDA Dres. Carlos J. Alarcón y Luis Gómez Carrasquero.
6. REACTIVIDAD CRUZADA DE LA LEPROMINA CON OTROS ANTIGENOS MICOBACTERIANOS
Dres. M. Goihman Yahr, S. Raffel y R. W. Ferraresi.
7. ESTUDIO HISTOLOGICO DE LA REACCION DE MITSUDA Y SU VALOR PRONOSTICO
Dr. Oscar Reyes.

LA VITAMINA B6 COMO PROTECTOR SOLAR

Dr. LUIS GOMEZ CARRASQUERO *

Dra. ESPERANZA HERRERA **

VITAMINA B6 = clorhidrato de piridoxina = adermina.



HISTORIA. 1934, Gyorgyi la diferencia de otros factores del complejo vitamínico B y la denomina vitamina B6.

Aislamiento: Gyorgyi; Keresztesy y Stevens; Lepkovsky; Kuhn y Wendt; Itiba y Miti (1938).

Constitución: Kuhn y Wendt (1938) ; Andersag y Westphal (1939)

Síntesis: Harris y Folkers (1939) ; Kuhn y col. (1939) ; Cohen y col. (Roche) (1947).

* Instructor de la Cátedra de Dermatología y Sifilografía de la Universidad Central de Venezuela. Hospital Universitario, Caracas, Venezuela.

** Dermatólogo adscrito al Servicio de Dermatología del Hospital Universitario, Caracas, Venezuela.

QUIMICA. Clorhidrato de 2-metil-3-hidroxi-4: 5-bis (hidroximetil) piridina. C_A H₁₁ O₃ N. HC.

PROPIEDADES. Cristales incoloros, ligeramente amargos, solubles en agua, insolubles en los solventes de las grasas. Resistentes al calor. Se descomponen por los álcalis y la luz ultravioleta. P.F.206-208°C.

FUENTES. Levadura, cereales, legumbres verdes; vísceras, musculos; yema de huevo, leche.

UNIDADES. No hay standard internacional.

REQUERIMIENTO. No se ha determinado todavía.

MATERIAL Y METODOS

Se seleccionaron diecisiete pacientes, de ambos sexos, de la consulta externa y hospitalizados con fotosensibilización adquirida y congénita comprobadas.

La observación de los pacientes se realizó cada 7 días, una vez a la semana, durante un período de 4 a 6 meses

En el tratamiento de los pacientes se ensayaron tres esquemas sucesivamente.

Los resultados fueron catalogados en excelente, bueno, regular y nulo.

Muchos de los pacientes habían recibido tratamientos previos con antihistamínicos, sin que con ello se lograra respuesta satisfactoria.

A cada paciente le fueron practicadas pruebas de fotosensibilización (Foto Patch Test) con Prometazina (Fenergan) y sulfas.

Los resultados obtenidos se expresan en tablas.

DOSIFICACION

Se eligieron tres esquemas de tratamiento, utilizándolos sucesivamente en cada paciente, con dosis elevadas de la droga (clorhidrato de piridoxina), totalizando 600 a 1.200 mg al día, por vía oral. (Cuadro I).

CUADRO I

Esquema de tratamiento A:

Duración del tratamiento	10 días
Cantidad de droga administrada	1.200 mg
Dosificación	300 mg

Q.I.D. *Esquema de tratamiento B:*

Duración del tratamiento	15 días
Cantidad de droga administrada	13.500 mg
Dosificación	300 mg
T.I.D.	

Esquema de tratamiento C:

Dosificación	300 mg B.I.D.
Cantidad de droga administrada	72 - 108 mg
Duración del tratamiento	4 a 6 meses

El número total de casos, que fue de diecisiete, fueron sometidos sucesivamente a los tres esquemas de tratamiento, a excepción de un paciente (xeroderma pigmentoso) quien no cumplió las indicaciones.

RESULTADOS

A continuación exponemos el número de casos tratados con el clorhidrato de piridoxina (*BENADON*) y los resultados obtenidos en cada uno de ellos. (Cuadro II).

CUADRO II

<i>Nº de casos</i>	<i>Excelente</i>	<i>Bueno</i>	<i>Regular</i>	<i>Nulo</i>	<i>E. Sec.</i>
17	13	3	0	1	0

Pacientes en los cuales se ensayó la vitamina B₆, Benadon "Roche", detallando cada caso en particular y los resultados obtenidos. (Cuadro III).

CUADRO III

Paciente Edad	Sexo	Photo Patch		RESULTADOS					E.
		Fenergan	Sulfa Sec	Excelente	Bueno	Regular	Nulo		
1	36	M	+++	0	+		0	0	No
2	52	F	0	+	+	0	0	0	No
3	47	F	+++	0	+	0	0	0	No
4	46	M	0	0	0	0	0	+	No
5	45	F	+++	0	+	0	0	0	No
6	53	M	++++	0	+	0	0	0	No
7	81	M	++++	0	+	0	0	0	No
8	66	F	++++	0	0	+	0	0	No
9	67	F	++++	0	+	0	0	0	No
10	41	F	+++	0	+	0	0	0	No
11	47	F	+++	0	+	0	0	0	No
12	49	F	+++	0	+	0	0	0	No
13	50	F	++++	0	+	0	0	0	No
14	56	F	++++	0	+	0	0	0	No
15	28	M	++++	0	+	0	0	0	No
16	52	F	++++	0	0	+	0	0	No
17	52	F	+++	0	0	+	0	0	No

La mayoría de estos pacientes había recibido tratamiento previo con antihistamínicos por vía oral, parenteral y tópicamente por varios años. (Cuadro I V).

CUADRO IV

PACIENTE	Duración enfermedad	Tratamiento previo
L.P.A.	3 años	sí
2 E.M. de V.	6 días	no
3 A.R. de G.	7 años	sí
4 I.G.G.	Nacimiento	no
6 P.O. de M.	6 años	sí
6 E.L.	3 años	sí
7 M.P.	1 año	sí
8 S.M. de A.	7 años	sí
9 E.G.	4 años	sí
10 A.P. de M.	1 -1/2 años	sí
11 T.R.	5 años	sí
12 M.C. de D.	1 año	sí
13 M.G. de O.	6 años	sí
14 A.S.	13 años	sí
15 J.L.O.	4 años	sí
16 A.G.O	4 años	sí
17 M.B. de P.	3 años	sí

La droga mostró una tolerancia excelente en cuanto a efectos secundarios se refiere, no registrándose ningún efecto colateral indeseable en el grupo de pacientes tratados.

RESUMEN

Ha sido el propósito de este trabajo evaluar el efecto terapéutico de la vitamina B₆, Benadon "Roche", en dosis elevadas, en el control de dermatitis con fotosensibilización.

Se ensayó la droga en diecisiete pacientes, dieciséis con fotosensibilización adquirida y uno con xeroderma pigmentoso. Se utilizaron tres esquemas de tratamiento sucesivos en cada paciente, con dosis decrecientes en cada uno de ellos.

Los resultados logrados pudieran ser catalogados como *excelentes*, así como también la tolerancia de la droga.

CONCLUSIONES

1ª) La vitamina B₆, Benadon "Roche", se mostró eficaz en el control de la fotosensibilidad en pacientes que sufrían por ella durante varios años.

En un total de diecisiete pacientes se obtuvieron los resultados siguientes:

Excelente	13
Bueno	3
Nulo	1

Es de notar que el paciente con resultado nulo (xeroderma pigmentoso) no cumplió el tratamiento prescrito.

2ª) Los síntomas desaparecen, con las dosis de vitamina B₆, incluyendo el prurito, en los primeros 10 días del tratamiento.

3ª) El beneficio obtenido con este tratamiento se elimina al suspender la droga.

4ª) La droga en estudio comprobó una excelente tolerancia.

MISION DE LA VITAMINA B₆

La piridoxina pertenece al grupo de vitaminas con actividad prostética. Es decir, la de aquellas vitaminas que, una vez ingresadas en el

organismo, son acopladas a sustancias de carácter proteínico para formar fermentos, indispensables para el metabolismo de la célula. Por ejemplo la tiamina, la riboflavina y el ácido nicotínico, que constituyendo la parte activa de las correspondientes enzimas (carboxilasa, fermento amarillo, codehidrasas) intervienen, sobre todo, en el metabolismo de los glúcidos y de los lípidos. En cambio, la vitamina B₆ está más en relación con el metabolismo de los prótidos.

En la naturaleza la vitamina B₆ se presenta bajo tres formas: piridoxina, piridoxal y piridoxamina.

Durante los procesos metabólicos se transforman unas en otras. La forma activa es el piridoxal que, como éster fosfórico, constituye el cofermento o coenzima de numerosas enzimas.

LA VITAMINA B₆ OCUPA UNA POSICION CLAVE EN LOS PROCESOS METABOLICOS

B₆ TRANSAMINACION. Enlaza el metabolismo de los aminoácidos con el de los glúcidos y los lípidos, interviene en el ciclo energético y en la destoxicación, así como en procesos esenciales para el funcionamiento normal del miocardio.

B₆ DESCARBOXILACION. Formación de aminas fisiológicamente tivas (por ejemplo noradrenalina, serotonina, ácido x-a:ninobutirico), indispensables para las funciones del tejido nervioso.

B₆ DESHIDRATAACION. Y otras reacciones enzimáticas específicas: inactivación de los productos metabólicos tóxicos y de las toxinas exógenas.

Sobre estas reacciones se basan las propiedades neurotropas, cardiotónicas y destoxicantes de la vitamina B₆.

LAS FOSFATASAS ALCALINAS EN NUEVA MODALIDAD PARA LA IDENTIFICACION DE VASOS SANGUINEOS

Dra. IMELDA CAMPO-AASEN
Dr. RAUL FACHIN VISO

SINOPSIS

Usando el Glutraldehido como fijador, el Naftol A.S.B.I. como sustrato, la sal diazoica roja T.R. a un pH de 9.2 y con un tiempo de incubación de 45 minutos, se presenta un método fácil y rápido, para la identificación de los vasos sanguíneos, los cuales son observados de una coloración rojo ladrillo.

Las fosfatasa alcalinas, han sido localizadas en piel normal y patológica (I) en capilares del corium, en red capilar de glándulas sebáceas y en infiltrados inflamatorios. Han sido repetidas veces demostradas en áreas donde se produce síntesis de proteínas fibrosas y, por lo tanto, se han visualizado en el pelo, en los huesos y en sitios donde se realiza formación de colágeno.

A nivel de la piel normal está localizada en el endotelio vascular de vasos sanguíneos, en la papila dérmica, y en la red capilar de las glándulas sebáceas.^{2 3 4} La formación del colágeno se ha provocado experimentalmente en la cicatrización de heridas.^{5 6}

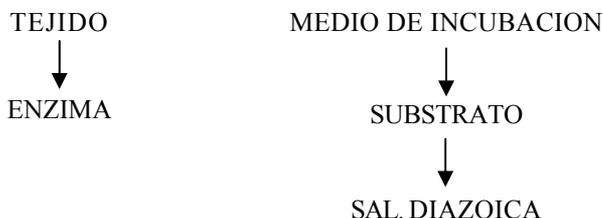
En estas investigaciones, se ha usado como fijador la formalina al 10 por ciento y la formalina hidrato de cloral en cortes por congelación y como técnica demostrativa, el método de Gomori, el cual demuestra la presencia de la enzima, por un precipitado color pardo negruzco o negro.

MATERIAL Y METODOS USADOS

- 1) Piel humana normal.
- 2) Piel de hamster normal, tomada de la almohadilla de la pata.
- 3) Piel de paciente de leishmaniasis tegumentaria americana.
- 4) Piel de paciente de leishmaniasis difusa.

BASE DE LA REACCION ENZIMATICA USADA

"Captura o acoplamiento simultáneo"



ENZIMA + SUBSTRATO \longrightarrow COMPUESTO

AROMATICO + SAL DIAZOICO \longrightarrow COMPUESTO

AZOADO FUERTEMENTE COLOREADO.

"En este caso coloreado de rojo debido a que la sal diazoica empleada fue el Fast Red T.R. (sal roja)".

Salas diazoicas provienen de una amina aromática con ácido nitroso.

FIJADOR

Aplicamos los principios generales de la conservación de la actividad enzimática retenida en apreciable cantidad después de la prefijación aldehídica propulsada por Sabatini y Col.⁷ para histoquímica, destinada a microscopia electrónica.

Usamos el Glutraldehido a 4°C al 3 por ciento en buffer fosfato pH 7.2. más sucrosa 0,88 M. en un tiempo que puede extenderse desde algunas horas, a días, ya que la actividad enzimática se conserva aparentemente por semanas y meses, siempre que se conserve a 4°C. Los bloques de tejidos variaron de tamaño entre 3 y 5 mm.

Una vez fijados y lavados, se cortaron a 15 y 20 micrones. Se dejaron secar en laminillas albuminizadas por una hora a temperatura ambiente.

MEDIO DE INCUBACION

Buffer veronal acetato, a un pH de 9.2, 10 ml.

Naphtol A.S.B.I. 10 mg.

Farst Red T. R. salt (sal diazoica roja) 10 mg.

Tiempo de incubación 45 minutos, a temperatura ambiente. Lavar con agua destilada. Montar en lámina con jalea de glicerina. La incubación se hizo en jarritas Columbia, usando, por lo tanto, sólo laminillas, montándose posteriormente en láminas, con jalea de glicerina.

RESULTADOS

Primero: En piel normal humana, observamos intensa actividad enzimática fina, granular en el endotelio capilar, en la red capilar de las glándulas sebáceas, en la papilla dérmica folicular. No se observó actividad epidérmica.

Segundo: En piel normal de hámster, se encontró abundante red capilar del músculo, del bulbo piloso, capilares de la dermis y en los osteoblastos del periostio de los huesecillos normales de la pata del hámster.

Tercero: En el granuloma experimental de leishmaniasis tegumentaria difusa, del hámster, observamos deposición granular rojo escarlata, sin difusión nuclear, las células son macrófagos, las cuales se observan intensamente teñidas de rojo en el citoplasma, debido a la actividad enzimática.

Cuarto: En el granuloma de piel de leishmaniasis tegumentaria difusa humana, no se observó actividad enzimática de fosfatasa alcalina, notándose tan sólo los capilares.

CONCLUSIONES

Primera: Se ha usado el gluteraldehido como fijador de las fosfatasa alcalinas, con su aplicación en piel normal y patológica.

Segunda: Se ha aplicado el método de la captura simultánea, utilizando el Naftol A.S.B.I. como substrato y la sal roja diazoica T. R.

Tercera: Creemos que este método es de fácil aplicación, tiene mejores ventajas que el método de Gomori para el estudio de las fosfa-

tasas alcalinas en la piel, ya que un tiempo de incubación muy corto, de 45 minutos, es suficiente y no es propenso a artefactos ni a difusión nuclear.

RESUMEN

Usando un método de captura inmediata enzimática los autores presentan un método fácil y rápido, para la identificación de los vasos sanguíneos en la piel normal y patológica.

Como fijador fue usado el Glutraldehido al 3 por ciento en buffer fosfato *pH* 7.2 más sucrosa 0, 88 M. En el medio de incubación se usó como sustrato el Naftol A.S.B.I. y la sal diazoica roja T.R. en Veronal acetato *pH* 9.2, el tiempo de incubación fue de 45 minutos y se obtuvo una coloración rojo ladrillo.

Se usó piel humana normal y piel de hamster normal, demostrándose las fosfatasas alcalinas en la red capilar de piel normal, del músculo y en osteoblastos.

En el granuloma de leishmaniasis difusa humana se observó actividad enzimática sólo en los vasos capilares, contrastando con la intensa actividad enzimática encontrada en las células del granuloma experimental del hámster.

Estos resultados por nosotros observados abren nuevos caminos de estudios en otros granulomas parasitarios, así como el estudio de las relaciones entre el huésped y el parásito.

SUMMARY

Using an enzymatic coupling reaction the authors present a fast and easy method for the identification of blood vessels in normal and pathological skin.

As a fixative they used 3 % gluteraldehyde in phosphate buffer *pH* 7.2 with sucrose 0.88 M. Naphtol A.S.B.I. was used as substrate, with red salt T.R. in veronal acetate, at *pH* 9.2, incubation time used was 45 minutes.

The enzymatic activity is shown by a fine granular red brick colour precipitate in blood vessels of normal and pathological skin (granuloma Leishmaniasis difusa) in blood vessels of muscle and foot pad of hamster. There was strong enzymatic reaction in cells of the experimental leishmaniasis granuloma in hamster.

BIBLIOGRAFIA

1. Kopf, A. W.: "The distribution of alkaline phosphatase in normal pathologic human skin". A.M.A. Arch. Derm. 75. I. 37. 1957.
2. Zander, H. A.: "The distribution of phosphatase in gingival tissue". J. Dent. Res. 20: 347-353, 1941.
3. Giaconetti L. and Machida. H.: "Alkaline phosphatase in the Sense Endings of the clitoris". Arch. Derm. Vol. 91 N? 4 April 1965. 377-378.
4. Montagna, W.: The structure and function of the skin. Academic Press, págs. 296-297 N. Y. and. Ed. 1962.
5. Washburn, W.: "Comparative histochemical observations of wound healing in adult rats and cultured adult human epithelium". Journal Invest. Dermatology. Vol. 24 May. 1955, N? 5, 537-544.
6. Fell, H. B. and Danielli, J. T.: "The enzymes of healing wounds. The distribution of alkaline phosphatase monoesterase in experimental wounds and burns in the rat". Brit. J. Exp. Path. 24: 196, 1943.
7. Sabatini, David. Miller, F. Rusell, J. Barnett.: "Aldehyde fixation for morphological and enzyme histochemical studies with the electro microscope". Histochemical Society Simposium. April 8, 1963.

ALTERACION Y TRANSFORMACION DE CELULAS CULTIVADAS "IN VITRO"

Lic. CARLOS COTTE R.*
Dr. ERVIN ESSENFELD-YAHR **
Dr. ALEJANDRO CALVO LAIRET ***

Trabajo realizado en los Laboratorios de Investigación y Cultivo de Tejidos del Hospital "Padre Machado", de la Sociedad Anticancerosa de Venezuela, con el aporte económico y la colaboración de la Compañía Shell de Venezuela, el Rotary Club "Valle de Caracas" y el Departamento de Patología Experimental de la Cátedra de Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela.

INTRODUCCION

Son numerosos los trabajos que sobre alteraciones y transformaciones celulares en cultivo de células se han publicado pero poco se sabe sobre la naturaleza real de los cambios que en ellos ocurren. Por esto, es de considerable importancia el estudio de todos aquellos mecanismos y fenómenos que puedan crear variaciones celulares, principalmente aquellos factores que puedan inducir el cambio de células normales a células malignas.

El efecto de numerosos compuestos y sustancias químicas, así como otros factores de tipo físico y biológico, han sido utilizados para producir variaciones en las células en cultivo.^{1 2 3} Además de estos fenómenos inducibles, se ha logrado la conversión de células normales a células

* Jefe de la Sección de Cultivo de Tejidos del Departamento de Anatomía Patológica del Hospital "Padre Machado".
** Jefe del Departamento de Anatomía Patológica del Hospital "Padre Machado".
*** Director del Hospital "Padre Machado", de la Sociedad Anticancerosa de Venezuela.

malignas *in vitro*, mediante pasajes sucesivos y largos períodos de tiempo. Este es un fenómeno reproducible que ocurre en cultivos de diferentes tejidos, órganos, especies y estados de desarrollo.

Las células de un cultivo primario, al mantenerse en forma continua mediante pasajes sucesivos, sufren cambios apreciables que llevan a una transformación de su morfología celular, pero lo que ocurre con mayor frecuencia es que las células degeneran y mueren.¹ El propósito de este trabajo es el de estudiar el efecto de medios metabolizados y condicionados por células malignas y no malignas en cultivo sobre cultivos celulares no estables mantenidos en forma continua. Se quiere observar la acción, que tales medios ejercen, sobre la mayor o menor adaptación de los cultivos a las condiciones de vida *in vitro*.

MATERIAL Y METODOS

Obtención de los cultivos. Los procedimientos y técnicas para la obtención y manejo de los cultivos celulares fueron descritos en publicación anterior.¹ Se emplearon en los experimentos cultivos de embrión de pollo, cultivos primarios establecidos de material tumoral humano y un cultivo celular estable maligno: la línea celular HeLa.¹ 8 9 io "

Preparación del medio metabolizado y condicionado. El medio metabolizado por las células, tanto de los cultivos primarios como de los cultivos estables, fue recogido siempre después de 72 horas al mostrar una acidez bastante marcada. Se recolectó asépticamente congelándose y descongelándose varias veces, luego se filtró por presión de nitrógeno en un filtro Ertel de 250 cc con disco N° 9. El medio especial metabolizado y condicionado para el crecimiento y mantenimiento de las células en cultivo sometidas al tratamiento experimental se preparó con medio de Eagle (70 por ciento) y medio metabolizado (30 por ciento) en proporción constante de 1:3. Las células control fueron mantenidas en medio de Eagle normal sin la adición de medio metabolizado.

Procedimiento. Después de haberse obtenido un cultivo primario, de cada uno de los tipos celulares a cultivarse, se efectuó un pasaje por tripsinización, sembrándose en frascos y tubos de Leighton. Los frascos y tubos, de cada uno de los cultivos, se dividieron en dos grupos; un primer grupo fue tomado como control al que se le siguió la rutina de mantenimiento normal con sus respectivos cambios de medio y pasajes por tripsinización; un segundo grupo con el cual se efectuó cada uno de los experimentos.

RESULTADOS

Después de efectuarse diez pasajes consecutivos, tanto de las células tratadas como de los controles, se notaron cambios apreciables en los cultivos sometidos a tratamiento.

En los pasajes primero y segundo las células no muestran cambios en cuanto a la morfología y disposición celular, pero en los sucesivos pasajes se observan, en todos los cultivos, una diferenciación celular a la vez que una disposición diferente en la forma de crecimiento. Las células no tratadas persisten en su forma y disposición inicial a través de los primeros pasajes, mostrando una degeneración progresiva hasta el agotamiento total del cultivo.^{7 8 9}

Mediante este procedimiento fueron obtenidas dos líneas celulares,^{10 11} descartándose otros cultivos tratados en los cuales se observa una estabilización en el crecimiento y en la morfología celular, que nos hizo suponer una tendencia al crecimiento y mantenimiento indefinido del cultivo. El tratamiento utilizado con otros cultivos, dando siempre idénticos resultados, nos afirma la reproducibilidad del fenómeno.

DISCUSION

Las células obtenidas de cultivos primarios sufren cambios que conducen a la muerte celular o a la constitución de una línea celular estable por adaptación de las mismas a las condiciones de vida *in vitro*.⁵ Estos cambios que conducen a uno u otro resultado no son del todo conocidos. La degeneración celular y su muerte no ocurre por la ausencia de metabolitos en el medio de cultivo o por el agotamiento de uno o más metabolitos presentes en la célula original; ello ocurre quizás por una senectud precoz a nivel celular^{12 13 14} o por desequilibrios profundos de interacción entre una y otra célula.

Los resultados obtenidos nos indican una transformación rápida y continua de todas las células del cultivo al estar presente siempre parte del medio metabolizado por el mismo tipo celular. Esto puede ser interpretado como una adaptación de un tipo celular a unas condiciones no normales creadas por la sustracción proporcional de metabolitos esenciales dentro del conjunto inicial, lo que ha hecho desarrollar mecanismos de síntesis más aptos para la supervivencia celular. Esta adaptación implica posibles mecanismos genéticos alterados que se reflejan en cambios metabólicos y transformaciones morfológicas aparentes.

Otro hecho es el de la presencia de uno o más factores producidos por la misma célula que van a actuar modelando el medio ambiente para constituir una unidad de interacciones mutuas célula-medio ambiente.

Esta última observación concuerda y está apoyada por el hecho de que hay ciertas experiencias que indican que existe una sustancia que condiciona el comportamiento celular.¹⁵ Si en realidad existe un factor que condiciona las células para comportarse de esta manera, sería un instrumento ideal para el estudio y comprensión de los mecanismos de regulación celular, así como el estudio de los procesos genéticos implicados.

RESUMEN

Se estudia el efecto, que sobre cultivos primarios y continuos no estables ejerce el medio Eagle metabolizado por células del mismo o diferente origen. Se observa una transformación de la morfología celular inicial y una tendencia al crecimiento continuo indefinido sin presentar signos degenerativos como los observados en los cultivos controles sin tratar. Con tales procedimientos se obtienen dos nuevas líneas celulares estables: la CAP-M2 y la CEP-M1.

BIBLIOGRAFIA

1. Berwald, Y.; Sachs, L.: "*In vitro* transformation of normal cell to tumor cells by carcinogenic hydrocarbons". *J. Nat. Cáncer Inst.* 35:641-661. 1965.
2. Giraldi, A. J.: *Host-virus relationships in virus-induced tumors and transformed cells* *Cancer Res.* 1: 1185-1188. 1966.
3. Parker, R.; Castor, L.; McCulloch, E.: *Altered cell strains in continuous culture: A general Survey*. Special Publication of the New York Academy of Sciences. 5: 303-314; 1957.
4. Levinson, C.; Green, J. W.: "Response of Cultured chickheart cell to changes in ionic environment". *J. Cell Physiol.* 67:455-462. 1966.
5. Simons, J. W. "The use of frequency distributions of cell diameters to characterize cell populations in tissue culture". *Exptl. Cell Res.* 45: 336-350. 1967.

6. Cotte, C.; Essensfeld-Yahr, E.; Calvo Lairet, A.: *I. Acción del medio metabolizado por un cultivo primario de células de embrión de pollo sobre sus fibroblastos en cultivo continuo.* (En prensa).
8. Essensfeld-Yahr, E.; Cotte, C.; Calvo Lairet, A.: *II. Acción del medio metabolizado por células malignas sobre fibroblastos de embrión de pollo.* (En prensa).
9. Essensfeld-Yahr, E.; Cotte, C.; Calvo Lairet, A.: *III. Acción del medio metabolizado por un cultivo primario de células de origen neoplásico sobre células normales.* (En prensa).
10. Cotte, C.; Essensfeld-Yahr, E. Calvo Lairet. A.: *Establecimiento de la línea celular CEP-M1.* (En prensa).
11. Essensfeld-Yahr, E.; Cotte, C.; Calvo Lairet, A.: *Establecimiento de la línea celular CAP-M2.* (En prensa).
12. Cooper, G. W.; Lash, J. W.: *The Wistor Inst. Symposium Monograph. Vol. I, p. 21* 1964.
13. Harris, M.: *Cell Culture and Somatic Variation Holt.* Rinehart and Wiston, N. Y. 1964.
14. Hayflick, L.; Hothead, P. S.: *The Serial cultivation of human diploid cell strains Exptl. Cell Res.* 25: 585- 598. 1961.
15. Rubin, H.: *A substance in conditioned medium which enhances the growth of small numbers of chick embryo cells. Exptl. Cell Res.* 41; 138-148. 1966.

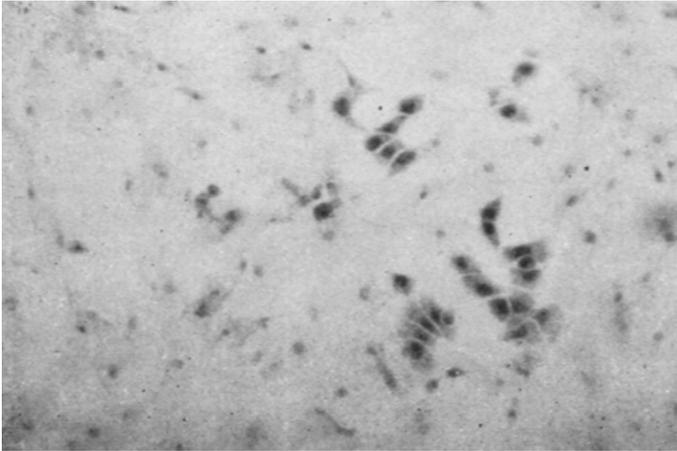


Foto N° 1. Fibroblastos de embrión de pollo, tercer pasaje. Cultivo sometido al tratamiento con medio metabolizado. Obsérvense los focos de células transformadas, rodeadas por las células iniciales del cultivo. 35X.

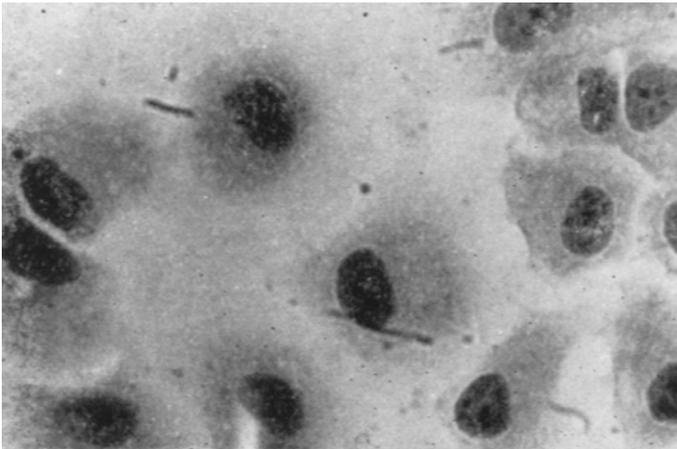


Foto N° 2. Línea celular CAP-M2. 450X.

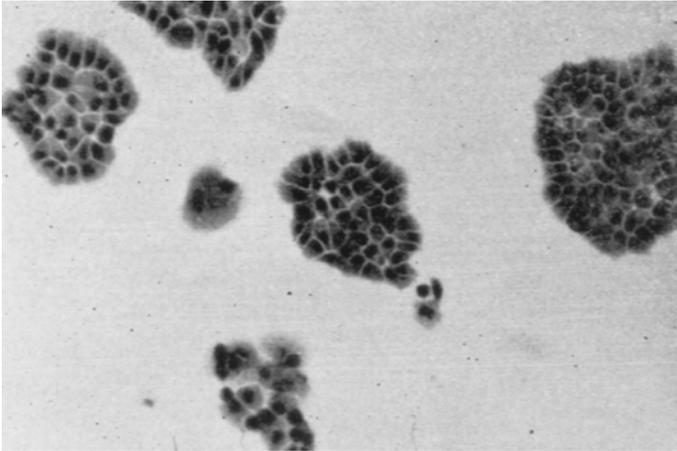


Foto N° 3. Crecimiento en mosaico de un nuevo tipo celular obtenido al ser tratado el cultivo con medio condicionado. Séptimo pasaje. 100X.

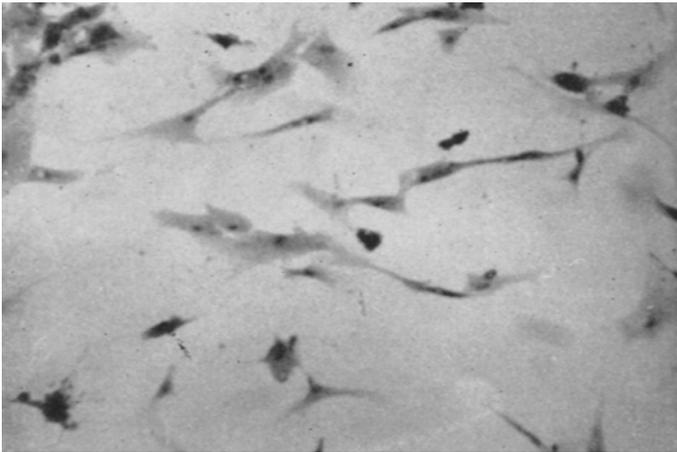


Foto N° 4. Cultivo control, octavo pasaje. Persistencia del tipo inicial celular, sin cambio aparente en su morfología. Cultivo en degeneración. 100X;

**ESTUDIO DE LAS VARIACIONES DEL POTENCIAL DE
OXIGENO LOCAL DE LA PIEL, MEDIANTE LA
TECNICA DE IMPLANTACION AGUDA DE
ELECTRODOS POLAROGRAFICOS**

Dr. OMAR MIRET O.*

Dr. FERNANDO AGUILERA **

I. INTRODUCCION

La fisiología cutánea ha sido incorporada en los últimos años y, en forma definitiva, a la investigación científica, ya pura, ya aplicada, permitiendo así el mejor conocimiento de un órgano que es sorprendentemente funcional, limitante del medio interno con el exterior.

Sin embargo, existen numerosas lagunas y múltiples mecanismos básicos desconocidos, debido en gran parte a las dificultades técnicas habidas y a la misma naturaleza del tegumento, que está sometido a un gran número de variables.

Cada función dinámica de la piel descansa sobre una estructura bioquímica, que desarrolla la producción de enes gía, el consumo de oxígeno y la liberación del bióxido de carbono.

Por ello, la presencia del oxígeno tisular nos informará de la actividad cutánea y el estudio de las variables nos dará un índice de su metabolismo intrínseco.

Ya las mediciones del consumo de oxígeno (QO₂), de la piel normal, se han realizado utilizando la técnica clásica de Warburg.

Quiroga y Guillot (¹) han encontrado con este método, micrométrico, un consumo de oxígeno (QOZ) de 0.933 mililitros de oxí-

* Médico Adjunto del Servicio de Dermatología del Hospital Central de Valencia. Profesor Asociado de la Cátedra de Fisiología y Biofísica de la Universidad de Carabobo.

** Jefe del Servicio de Dermatología del Hospital Central.

geno por hora y por gramo de peso seco. Estas cifras son bajas, pero son tres a cuatro veces superiores a las de la dermis, debido a que en las células epidérmicas, basales malpighianas y epitelios glandulares es donde se efectúa la mayor parte de los fenómenos metabólicos.

La actividad respiratoria de la piel es sólo de 1/5 a 1/10 de la del músculo, hígado o cerebro, pero teniendo en cuenta la alta proporción de material relativamente inerte (queratina y tejido fibroso), se considera que sus componentes celulares vivos poseen un consumo de oxígeno que no puede estar muy alejado del de aquellos otros órganos.

En la actualidad, el *oxígeno polarográfico* permite el estudio *in situ* de la presencia y variaciones del gas.

Es un método que tiene una gran utilidad específica, cual es la de hacer posible la determinación del potencial de oxígeno local de un tejido.

Se han realizado implantaciones crónicas de electrodos polarográficos en diversos órganos, como el cerebro, miocardio ventricular, corteza y médula renales, médula ósea e intestino delgado'.

La literatura revisada referente a la implantación aguda de electrodos de oxígeno, a nivel cutáneo, es escasa. A este respecto, la bibliografía nacional es inexistente.

Nosotros hemos desarrollado la técnica de implantación aguda de electrodos polarográficos a nivel de la piel, mediante el empleo de cátodos activos de platino, que nos permiten el estudio cualitativo del potencial de oxígeno cutáneo.

De modo que considerando que la disponibilidad de oxígeno cutáneo y la tasa del flujo de la piel son factores que marchan paralelos, determinando el aumento o disminución del primero, las diversas situaciones que modifiquen al segundo factor, ya sea por reacciones directas o reflejas, locales o a distancia, que incidan sobre la circulación local, hemos creído necesario, hacer previamente una revisión del status actual de la circulación e inervación cutáneas, por desempeñar el substrato anatómico, vascular y nervioso, un papel básico en la dinámica de la piel, y que precisamente a este nivel acusa características especiales, que permiten su adaptación a las más variadas circunstancias.

CIRCULACION CUTANEA

El sistema vascular cutáneo. Las bases estructurales de la irrigación cutánea fueron establecidas por los trabajos iniciales de Spalteholz.⁴²

Como se muestra en la figura 1, la piel está irrigada desde los tejidos subyacentes por un gran número de arterias.

En lugares donde la piel es movable, las arterias son sinuosas y capaces de permitir una irrigación normal, aun cuando la piel esté grandemente estirada. Ellas se originan de una rica red anastomótica irregular en las partes más profundas del corión (*red arterial cutánea*). De

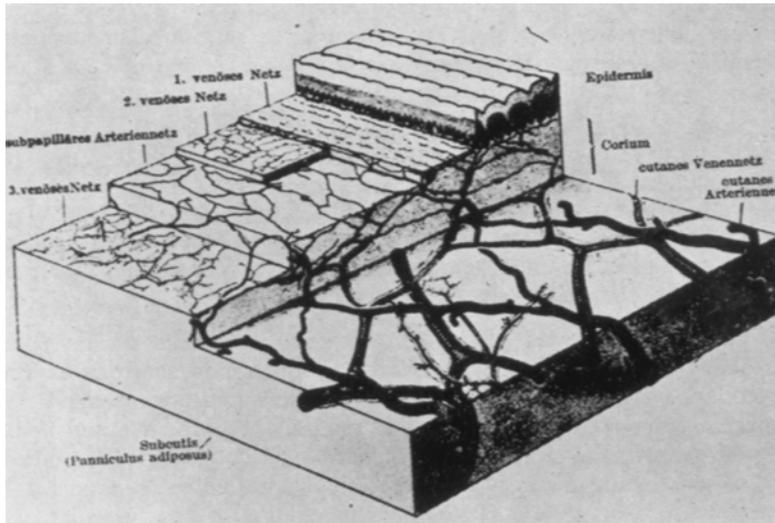


FIG. N° 1 Un diagrama de la piel y de sus vasos, mostrando la disposición de los plexos arteriales y venosos.

aquí, ya simples, ya parcialmente rectas o parcialmente arqueadas y ramificadas, las arteriolas ascienden perpendicularmente a través del corión y se anastomosan en el corión superior, para formar el *plexo arterial subpapilar* con redes oblongas más o menos paralelas a las salientes papilares.

Los orificios de las mallas son de 0.2 a 2 mm de diámetro, pero más pequeños en regiones expuestas a la presión (palmas y plantas). De los plexos subpapilares, todavía, arterias más pequeñas salen a suplir los capilares papilares. Estas arteriolas terminales no se anastomo-

san. Cada una de ellas suple un pequeño número variable de papilas. En la región plantar, el área irrigada por una simple arteriola ascendente está entre 0.04 y 0.27 mm².

El asa capilar en la papila tiene una rama arterial delgada. La punta del asa y la rama venosa miden 0.02 mm o más en diámetro. La longitud del asa capilar es de 0.2 a 0.4 mm. El número de asas capilares por unidad de área difiere grandemente según las regiones. Wetzel y Zotterman⁴³ contaron 62 por mm² en el dorso de la mano, 47 en el antebrazo, 16 en la mejilla y 20 en la región peribucal. El pequeño número de capilares en la mejilla se compensa por su gran diámetro, pero este no es el caso para la región perioral.

Nesterow⁴⁴ encontró las siguientes diferencias regionales en el número de capilares papilares por mm² de piel: en manos y antebrazos, 44; en hombros, 27; en tórax, 23; en la frente, 25; en la mejilla, 19; en los labios, 26; en el muslo, 29; pierna y pie, 11.

Las ramas venosas de los capilares papilares se unen para formar vénulas, las cuales se unen para formar el plexo venoso subpapilar, inmediatamente por debajo de las papilas.

Las venas de estos plexos son estrechas, de diámetro de pocas centésimas de milímetros. Estos plexos se unen por anastomosis cortas, con una -segunda red venosa, que se encuentra por debajo de la primera, a nivel del plexo subpapilar arterial, pero todavía son venas con una luz estrecha. Más profundamente, en el corión, hay dos plexos venosos más, con redes más abiertas. Finalmente, entre la dermis y la subdermis se ven grandes venas, algunas de ellas con válvulas. De acuerdo con Spalteholz⁴² si nosotros pasamos por alto las anastomosis entre grandes venas y arterias, el sistema venoso y el arterial sólo se comunican a nivel de las papilas. Claro que este no es el caso. Por estas anastomosis arteriovenosas, es posible que las arteriolas terminales tengan conexiones directas con vénulas musculares y la sangre puede fluir a través de estos shunts o a través de los capilares. La circulación capilar puede estar presente aun dentro del sistema venoso. En las capas más profundas de la piel, Krogh⁴⁵ observó pequeñas vénulas ramificándose de grandes venas y regresando de nuevo a grandes venas, las cuales son simplemente tubos endoteliales que se comportan como capilares. Yendo más allá, como demostraron Chambers y Zweifach⁴⁶ y Zweifach los capilares de la piel, como también el mesenterio, el músculo esquelético, y los ganglios linfáticos, tienen un número de elementos estructurales variados que hacen regresar su flujo capilar. Zweifach⁴⁷ y, más recientemente, Schorr⁴⁸ describieron la arquitectura de los pe-

queños vasos. La arteriola terminal, un vaso con una capa muscular distinta, da origen *al canal central preferencial*, la metarteriola. Estos vasos están rodeados por una simple capa de músculo liso en un tramo de su curso. Los canales representan la ruta más directa de la arteria a la circulación venosa.

El canal preferencial da ramificaciones que tienen en su inicio pocas células musculares, el *esfínter precapilar*. De este último salen los capilares verdaderos que son tubos de elementos no contráctiles (sólo endotelio) y se van uniendo unos con otros para formar vénulas. La sangre de los canales preferenciales y el flujo de los capilares van a la misma vénula. La constricción y dilatación de las arteriolas y de los esfínteres precapilares constantemente afectan el flujo sanguíneo capilar. Esa disposición permite la eliminación de los capilares de la circulación activa, sin interferir con el flujo de los canales preferenciales. La superficie vascular disponible para el intercambio de sustancias entre la sangre y el tejido en la piel humana es relativamente pequeña. Empieza entre 1 y 2 cm² por cm² de superficie de piel, aun cuando la superficie capilar total, incluyendo la rama venosa del asa, también entra en el intercambio de sustancias, la superficie capilar total todavía es corta como en la superficie de los músculos y el promedio de distancia entre el tejido y el vaso sanguíneo es mucho mayor en la piel que en el músculo.

Krogh ⁴⁵ considera el bajo nivel de la irrigación sanguínea de la piel como símbolo de baja tasa metabólica de la piel, sin embargo, no debe olvidarse la alta proporción de tejido conectivo cutáneo, lo que explica su grado de metabolismo bajo. De acuerdo con Krogh, la irrigación de la piel es mucho menos variable con respecto al músculo, cuando está en reposo o en ejercicio. *Anastomosis arteriovenosas*

Clark ⁴⁹ revisó en detalle los conocimientos existentes en este campo. Las anastomosis arteriovenosas constituyen conexiones directas entre arterias y venas con calibres considerablemente mayores que los vasos capilares.

Cuando se abren, y la arteria o arteriola se contraen distalmente a ellos, la circulación capilar es desviada por la anastomosis. La mayoría de ellas constan de tres porciones: una arterial o arteriolar, una porción intermedia de pared gruesa, la cual además de una disposición circular de las fibras musculares, también tiene una interna, de fibras longitudinales y una oblicua externa de apariencia epitelioide. Finalmente, la

porción venosa. A la observación directa, se puede notar que la porción intermedia tiene una contractilidad más activa. La porción arterial es, a menudo, retorcida o en espiral, la porción venosa tiene forma de embudo. Los shunts pueden ser simples, dobles o en ramillete de anastomosis múltiples y están ricamente inervadas por fibras simpáticas (¿y sensoriales?). La estructura retorcida total adopta la forma de bola o glomus en los dedos de pie y de manos. Su diámetro interno en la parte más estrecha es de 20 a 40 micras y raramente exceden de las 50. En la piel de los mamíferos, se ha demostrado la presencia constante en las falanges terminales de las patas delanteras y traseras, en las orejas y hocico. En algunos animales en la punta de la cola. Esta distribución se encuentra en las partes más expuestas a congelarse.

En la piel humana han sido encontradas abundantemente sólo en los pliegues ungueales y en las yemas de los dedos de las manos y pies, así como en las palmas de las manos. También han sido descritas en otras regiones dístales, pero necesita confirmación. En los dedos, la distribución es típicamente distal. Grant y Bland⁵⁰ encontraron 501 x cm² en los pliegues ungueales del dedo índice pero menos de 100 en la falange proximal, en las palmas.

Evidencias directas en animales e indirectas en el hombre son concluyentes de que las anastomosis arteriovenosas de los dedos se contraen y dilatan continuamente y juegan un papel importantísimo en los cambios de temperatura de los mismos. Cuando el flujo sanguíneo se hace principalmente a través de los shunts, en lugar de utilizarse la red capilar superficial, menos sangre caliente llega a la superficie y la sangre se enfría menos. Al mismo tiempo, las anastomosis arteriovenosas protegen de un enfriamiento, puesto que si ellas están abiertas, el flujo está grandemente aumentado. Fue calculado que por lo menos 256 veces la cantidad de sangre pasa a través de una anastomosis (con un diámetro de 40 micras), que a través de un capilar con un diámetro de 10 micras. Por lo tanto, la apertura de los shunts, producida reflejamente por el frío, protege las partes dístales en cierto grado de la necrosis tisular.

En el calentamiento local, los shunts están abiertos, pero la sangre fluye a través de los capilares, a pesar de la cantidad de sangre desviada. Por lo tanto, se disipa calor.

Clark⁴⁹, usando una técnica ingeniosa de observación de la circulación cutánea de la oreja del conejo, a través de una cámara especial, ha demostrado por observación directa que las anastomosis arteriovenosas se comportan en forma muy parecida a las arteriolas y arterias,

con respecto a los estímulos dilatadores y contráctiles, pero definitivamente las anastomosis son más activas y muestran una tendencia a la actividad independiente. Cuando estos autores sometieron las orejas de los conejos repetidamente a diferentes tipos de estimulación, causando un aumento del riego sanguíneo, por calentamiento, estímulos mecánicos y químicos, ellos notaron que se desarrollaron nuevas anastomosis arteriovenosas. Cuando el flujo sanguíneo se dejó regresar a su normalidad, también el status capilar regresó a su estado inicial. Richards⁵¹ sugiere que el diferente número de las anastomosis arteriovenosas puede ser responsable en el hecho de que haya personas de manos calientes y frías y señaló que las personas que trabajan por tiempo prolongado en ambientes fríos tienen manos frías y cianóticas y las que trabajan en el interior tienen manos calientes.

Según los trabajos de Chambers y Zweifach⁴⁶, los shunts arteriovenosos no sólo existen entre arterias y venas., sino entre arteriolas y vénulas adyacentes. En estas últimas los shunts son de 15 a 20 micras de diámetro. De acuerdo con Zweifach⁴⁷, las asas capilares de los pliegues ungueales representan unas conexiones directas entre las metarteriolas y las vénulas. Masson⁵² fue el primero en decir que, fisiológicamente, la presencia de las anastomosis arteriovenosas pueda ser la base anatomopatológica de los llamados tumores glómicos.

2. INERVACION CUTANEA

Vasoconstricción de origen nervioso

Impulsos vasoconstrictores centrales. La estimulación de las fibras simpáticas que inervan la piel causa constricción de los vasos cutáneos en el área inervada por las fibras estimuladas.

Pequeñas arterias, arteriolas y en grado menor metarteriolas, esfínteres precapilares y venas, participan en esta respuesta. La vasoconstricción causa palidez de la piel y si el estado de constricción es mantenido, enfriamiento.

El contenido total de agua de la piel, decrece. Inversamente, si las vías simpáticas son interrumpidas quirúrgicamente o paralizadas, las pequeñas arterias y arteriolas se dilatan. La dilatación causa un considerable aumento en el flujo sanguíneo a través de la piel y un correspondiente aumento de la temperatura cutánea.

Sin embargo, se debe asumir que, formalmente, las pequeñas arterias cutáneas y arteriolas están bajo la influencia de continuos impulsos

eferentes constrictores, que colocan a las venas en un estado de contracción tónica.

Actualmente fue visto por Adrian, Bronk y Phillips⁵³, que las fibras simpáticas transportaron constantemente descargas eléctricas, las cuales son principalmente concernientes a la vasoconstricción. Estas descargas fluctúan continuamente de una manera intermitentemente rítmica.

Estudios pletismográficos del flujo sanguíneo en los dedos, indican que el período de constricción de origen nervioso ocurre cada 30-60 segundos en todos los dedos, simultáneamente. Parece que el control nervioso causa continuamente una variada fluctuación, entre altos y bajos valores, más que un nivel de flujo constante.

Las descargas son de origen central y son una propiedad intrínseca del centro, porque ellas ocurren independientemente de alguna estimulación demostrable. El centro vasomotor autónomo se halla en el hipotálamo. El centro bulbar vasomotor, estudiado por Ranson y Billingsley⁵⁵ que controla el tono vascular en órganos internos no parece actuar en el control de los vasos cutáneos. El centro hipotalámico funciona automáticamente, a pesar, de la destrucción de partes altas del cerebro.

Aunque el hombre es incapaz de ejercer cualquiera influencia voluntaria sobre el tono de los vasos cutáneos, la palidez causada por la alarma, el miedo y otras emociones, hace evidente que este impulso vasoconstrictor eferente pueda originarse en centros cerebrales superiores. El centro cortical de la palidez emocional, así como otros impulsos corticales autónomos, está localizado en el área premotora⁵¹

Las fibras que aquí se originan, y que conectan la corteza con el hipotálamo, son consideradas como neuronas de primer orden, en la vía eferente vasoconstrictora. Neuronas de segundo orden corren desde el hipotálamo por el asta lateral de la sustancia gris de la médula espinal. Neuronas de tercer orden, tienen su origen en las células del asta lateral, abandonando la médula a través de la raíz ventral de los segmentos torácicos y lumbares, alcanzando el tronco simpático por la vía de los ramos comunicantes blancos. Estas fibras mielinizadas son las fibras preganglionares del sistema simpático. Ellas terminan en los ganglios simpáticos. Sus axones se ramifican alrededor de las células de los ganglios simpáticos.

Las fibras postganglionares no mielinizadas constituyen neuronas de cuarto orden; se originan en las células de los ganglios simpáticos y abandonan el tronco del simpático por la vía de los ramos

comunicantes grises. Ellos van a la periferia a través de los nervios periféricos mixtos y terminan en la pared de los vasos con ramificaciones amplias de sus axones.

Las fibras vasoconstrictoras postganglionares son adrenérgicas. Sus impulsos actúan por la liberación de notepinefrina en sus terminaciones, la cual a su vez produce el efecto vasoconstrictor.

La vasodilatación paralítica de la piel, después de la simpatectomía, no es permanente, porque mecanismos compensadores, gradualmente entran en juego.

- 1) Aumento del tono intrínseco de los músculos lisos vasculares.
- 2) Las células del músculo liso adquieren un aumento de la sensibilidad al estímulo vasoconstrictor local. (Metabolitos, frío, epinefrina) .
- 3) En las simpatectomías preganglionares, las células de los ganglios simpáticos quedan intactas y pueden responder al estímulo humoral, aunque sus conexiones con el sistema nervioso central son interrumpidas.
- 4) Las fibras simpáticas tienen un notable poder de regeneración y son capaces de formar uniones entre los cabos seccionados.

La parálisis vasodilatadora en las extremidades, después de la simpatectomía, está esencialmente restringida a la piel. Parece, que la circulación en los músculos, está primordialmente influenciada por metabolitos tisulares locales, mientras que el tono simpático central de los vasos cutáneos es tan importante en la regulación', como lo son los factores locales.

Vasoconstricción por reflejos a distancia

Los impulsos surgidos en la periferia, ya sean desde el mismo sistema vascular o desde otros elementos nerviosos periféricos, son conducidos al sistema nervioso central por fibras aferentes y allí hacen sinapsis con las vías vasoconstrictoras eferentes, con el resultado de una vasoconstricción, más o menos generalizada, de los vasos cutáneos.

Tales reflejos vasoconstrictores son producidos por enfriamiento de zonas circunscritas de la piel, por ruidos, por estímulos dolorosos cutáneos, por estimulación mecánica o química de órganos internos, por inspiración profunda forzada, por inhalación de humo de tabaco y de bióxido de carbono⁵⁸.

La espiración profunda es también efectiva. Este tipo de reflejo permanece intacto en casos de lesiones del hemisferio cerebral. El nivel de sinapsis, en el cual los impulsos aferentes son enviados a las vías eferentes constrictoras no se ha localizado satisfactoriamente.

Recientemente estudios sobre pacientes parapléjicos⁵⁹, con completa destrucción de la médula, han sugerido que, en algunas situaciones, la vasoconstricción cutánea puede ser un simple reflejo espinal.

Sin embargo, los impulsos aferentes más comunes, alcanzan el hipotálamo y son transferidos desde aquí a las vías vasoconstrictoras.

Las vías aferentes son, obviamente, múltiples. En el caso de la vasoconstricción inspiratoria, los impulsos probablemente se originan de los presorreceptores, en la aurícula derecha y en las venas intratorácicas

La respuesta refleja a los estímulos cutáneos, aparentemente se origina en las terminaciones de los órganos sensitivos de la piel y asciende por las vías sensoriales.

Con respecto a los reflejos vasoconstrictores producidos por el frío, hay por lo mínimo dos mecanismos de acción:

- 1) Cuando se sumerge una extremidad en agua fría impulsos aferentes originados en receptores cutáneos al frío, ascienden a los centros vasomotores.
- 2) La sangre fría retorna desde las partes sumergidas, alcanzando y estimulando los centros termosensitivos hipotalámicos.

Además, hay un aumento de la liberación de epinefrina y de norepinefrina, de las glándulas adrenales en este reflejo²⁶.

La oclusión temporal de la circulación no interfiere con este reflejo. Esto indica que es un fenómeno puramente nervioso, no influenciado por cambios hemodinámicos pasivos.

El reflejo es abolido en áreas de la piel en las cuales el simpático ha sido seccionado.

El reflejo cutáneo vasoconstrictor es más pronunciado en las partes distales, porque es evidente la presencia de gran número de anastomosis arteriovenosas a este nivel, las cuales se cierran por el impulso vasoconstrictor.

Sin embargo, no hay duda de que la elevación frecuente de la

presión arterial media se deba a la participación de áreas extensas de la piel en este reflejo.

Trabajando con pletismografía fotoeléctrica, también se observa más o menos el carácter general de la vasoconstricción refleja⁶⁰.

Sin embargo, los vasos cutáneos de la cabeza participan muy poco en el reflejo de vasoconstricción o inclusive pueden dilatarse, al mismo tiempo que los vasos cutáneos de los dedos se contraen rigurosamente.

La piel, en este sentido, tiene una gran capacidad de respuestas. Por ello, es el órgano por excelencia del reflejo vasoconstrictor.

La diferencia en la capacidad de respuesta es más notable si se compara con el músculo esquelético. Los estímulos que producen vasoconstricción en la piel no causan el mismo efecto sobre el flujo sanguíneo en los músculos, sino incluso, pueden aumentarlo.

Esto es análogo al efecto de pequeñas dosis de epinefrina, las cuales causan constricción de los vasos sanguíneos cutáneos, pero aumentan el flujo a través de los músculos.

La diferencia entre la reactividad de la piel y la del músculo es debida parcialmente al hecho de que los músculos contienen fibras simpáticas vasodilatadoras, mientras que en la piel tales fibras no han sido definitivamente demostradas. Los vasos cutáneos responden a la estimulación simpática y a la epinefrina exclusivamente, originando vasoconstricción²⁷.

Una infusión lenta de epinefrina causa un aumento apreciable en el consumo de oxígeno y en la temperatura corporal. Este efecto resulta por la vasoconstricción cutánea, la cual reduce la disipación de calor y causa un aumento en la temperatura del cuerpo y, en consecuencia, de la tasa metabólica.

Whitcher y Griffith⁶¹ han demostrado que este fenómeno sucede en la forma descrita. Ellos demostraron que, después de la separación de la piel de toda la superficie del cuerpo (excepto de la cabeza, cola y pie), si se empleaba la epinefrina lentamente no resultaba efectiva, en estas observaciones.

Vasoconstricción por Mecanismos Reflejos Locales

No se ha demostrado que reflejos axónicos-constrictores operen dentro de la piel. En la piel del sapo, Krogh observó que si una arteria es pinchada, hay una contracción capilar en la vecindad, lo cual depende de la integridad del simpático. En el hombre, Coon y Rothman⁶² observaron la aparición rápida de manchas pálidas en áreas ve-

cinas al sitio de inyecciones intradérmicas de sulfato de nicotina al 1/10.000. Estas inyecciones, sin embargo, se sabe que estimulan los nervios adrenérgicos pilomotores y posiblemente la vasoconstricción observada es causada por la liberación de un exceso de norepinefrina, la cual pudo haber inducido la vasoconstricción sin interferencia de los impulsos nerviosos.

Vasodilatación de Origen Nervioso

El problema de las fibras vasodilatadoras de la piel. Tres tipos de fibras vasodilatadoras se conocen que se encuentran en los mamíferos.

- 1º) Fibras parasimpáticas que se originan en la región craneal y di visión sacra del sistema nervioso central.
- 2º) Fibras simpáticas vasodilatadoras.
- 3º) Fibras vasodilatadoras antidrómicas o radicales posteriores.

Además, la vasodilatación neurogénica resulta de una parálisis x asoconstrictora, por disminución del tono vasoconstrictor.

Las fibras vasodilatadoras parasimpáticas (colinérgicas), así como aquellas que inervan las glándulas salivares y el pene, no se han descrito en la piel.

La existencia de fibras vasodilatadoras, que llegan a la piel por la misma vía del simpático, como fibras vasoconstrictoras, se ha supuesto que existen en base a observaciones indirectas.

Un hecho importante, es que el calentamiento del cuerpo produce un mayor flujo sanguíneo en una extremidad normal que en otra extremidad simpatectomizada. Por lo tanto, se concluye que en la simpatectomía han sido seccionadas algunas fibras vasodilatadoras. Si el reflejo de la vasodilatación que sigue al calentamiento local era debido sólo a la parálisis simpática, la reacción debía ser igual, en ambos lados. Warren y colaboradores, sin embargo, señalaron que estos experimentos podrían ser concluyentes, solamente si se hubiesen llevado a cabo inmediatamente después de la simpatectomía, porque más tarde hay un aumento compensatorio en el tono vascular, sobre el lado simpatectomizado, que complica grandemente la situación.

La misma dificultad surge, al interpretar la observación de que los miembros simpatectomizados son incapaces de enrojecerse al aplicar calor local. Si en una zona de piel, rubicunda por calentamiento, se bloquea el nervio cutáneo, la piel se pone pálida. Este fenómeno

también fue interpretado como una manifestación de la existencia de fibras simpáticas vasodilatadoras de la piel; del mismo modo, la parálisis del nervio mixto evita la vasodilatación activa. Existen razones para dudar de la validez de este experimento.

Trabajos de Warren y colaboradores⁶³ indican que no hay fibras simpáticas vasodilatadoras en la piel. Estos autores infiltraron ganglios simpáticos con procaína y encontraron, que la parálisis simpática de este modo producida, en las manos, conduce a una completa vasodilatación igual a la producida por calentamiento local o general.

Sarnoff y Simeone⁶⁴, estudiando la vasodilatación indirecta en la piel, por calentamiento de otras zonas, también concluyeron que esta reacción era debida exclusivamente a la inhibición central de impulsos vasoconstrictores y no a una dilatación activa.

De este modo, la existencia de fibras simpáticas vasodilatadoras en la piel permanece, hoy en día, un tanto oscura.

II. MATERIAL Y METODOS

Para la elaboración de este trabajo, se utilizaron conejos albinos de peso promedio de 3.000 gramos, con variaciones comprendidas entre los 2.470 y 3.700 gramos.

Previamente, a cada experimento, fueron sometidos a un ayuno de 24 horas.

Se practicó en el 95 por ciento de los casos anestesia con uretano, a la dosis de 1 gramo por kilogramo de peso corporal y diluido en 10 cc de solución salina isotónica. El 5 por ciento restante, además de la dosis inicial de uretano, recibió anestesia por vía endovenosa, utilizándose el Nembutal, a la dosis de 35 mg por kilogramo de peso corporal. De igual manera para su vehiculización, se diluía en solución salina isotónica. Estos conejos, que constituían el 5 por ciento fueron los que presentaron dificultades anestésicas, en el curso de los experimentos.

Los animales fueron sometidos a traqueotomía, según la técnica habitual, procediéndose a la disección del paquete vasculonervioso del cuello, exponiendo los elementos que presentan la siguiente disposición⁴⁰.

- a) La arteria carótida común, que pasa por delante, desde la abertura torácica superior, a un lado de la tráquea.

- b) El nervio vago, que corre a un lado de la carótida común, entre ésta y la yugular interna.
- c) El tronco del simpático, en su porción cervical, apoyado sobre la superficie dorsal de la carótida común ligeramente medial en relación con el vago. Es muy delgado con respecto al nervio vago.

Estos elementos fueron cargados cuidadosamente con hilos, para ser utilizados en el curso de los experimentos, siendo cubiertos con algodón empapado en solución salina isotónica.

Los animales fueron sometidos a respiración artificial, mediante el uso de una bomba tipo Palmer Ideal.

Previa limpieza con algodón empapado en xilol, se procedía al rasurado fino de la piel de la oreja, con el objeto de prepararla para la colocación óptima del electrodo de oxígeno, el cual se implantaba siguiendo un trayecto oblicuo de arriba hacia abajo y desde la porción distal hacia la porción proximal o raíz del apéndice auricular.

Una vez implantado el electrodo, fue fijado con una banda de cinta Durex.

En algunas ocasiones, nos vimos precisados a movilizar el electrodo de su posición inicial, cuando veíamos que, en el curso del experimento, éste no era sensible a la presencia del oxígeno cutáneo.

El electrodo indiferente, anódico, de plato clorurada, se implantó en algunas ocasiones, en la masa muscular del cleidomastoideo o del esternotiroideo. La mayoría de las veces, lo hicimos cerca del electrodo activo, a una distancia de 5 mm, aproximadamente, obteniéndose mayor sensibilidad en este caso.

1. MORFOLOGIA Y BIOFISICA DE LOS ELECTRODOS USADOS

A. Electrodo de oxígeno

Empleamos un electrodo activo, de platino, de 0.29 mm de diámetro, recubierto con barniz de uso corriente en neurofisiología (tres capas) o de esmalte. El electrodo presenta, libre de barniz, una punta de 0.5 mm, la cual es la que contacta con el tejido (en nuestro caso, con la piel). Hay autores que recubren la punta del electrodo con celofán o silicone al 10 por ciento.

B. Electrodo indiferente

Era más grueso que el electrodo catódico. Fabricado con alambre de plata clorurada. Los resultados obtenidos fueron mejores cuando lo implantábamos cerca del electrodo de oxígeno (activo). (Foto I).

En estas condiciones de implantación, se iniciaban los experimentos.

Un potenciómetro * mantenía el electrodo de platino ajustado a un potencial constante de 0.6 volts., con respecto al electrodo de plata, el cual se comportaba como ánodo. (Foto II) .

Cuando el oxígeno llega a la superficie del electrodo catódico, es reducido, y los electrones son liberados, los cuales fluyen en el circuito externo, como corriente. Esta corriente es proporcional a la tensión parcial del O_2 ⁸⁵.

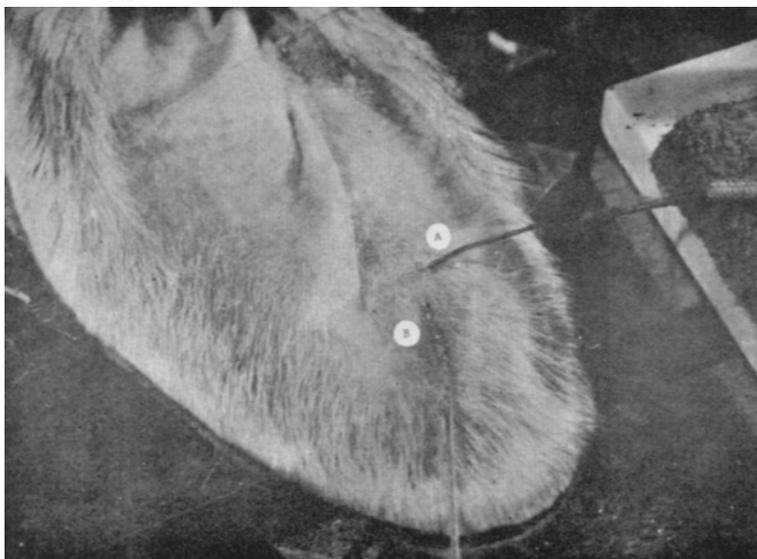


Foto I

A. Anodo indiferente.

B. Cátodo activo.

* Fabricado en el laboratorio de electrónica, Facultad de Medicina, Universidad de Carabobo.

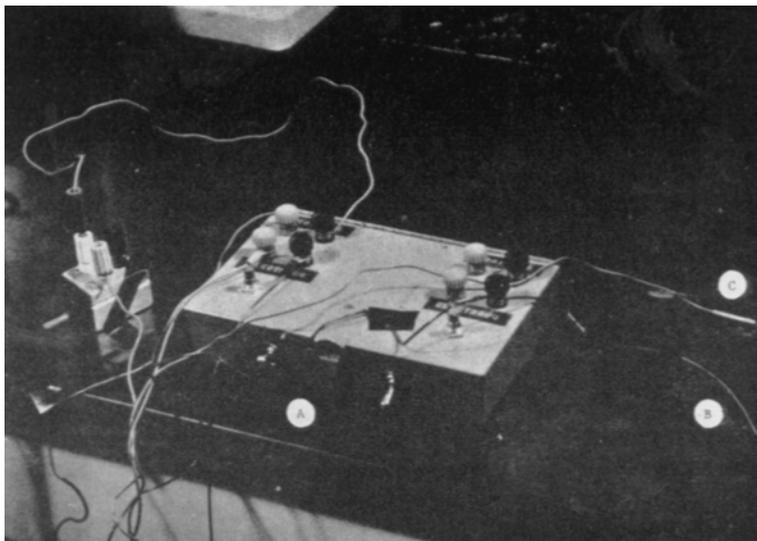


Foto 11

- A. Potenciómetro.
- B. Electrodo de oxígeno (cátodo).
- C. Electrodo indiferente (ánodo).

De modo que, *la corriente es la medida del número de moléculas de oxígeno electrorreducidas, en la superficie de cátodo.*

Una vez estabilizado el electrodo, la cantidad de oxígeno a nivel de la superficie del cátodo aumenta notablemente, debido al movimiento de fluidos cerca del electrodo; por ello Clark Misrahy y Fox prefieren usar el término *disponibilidad de oxígeno* (a_{O_2}), mejor que el de tensión de oxígeno.

Nosotros, usamos indistintamente, los términos *Potencial de oxígeno local o disponibilidad de O_2* (a_{O_2})

Los electrodos, como habíamos citado anteriormente, estaban ajustados a un potencial, de 0.6 volts., que siempre fue rectificado antes de iniciar cada experimento.

Del potenciómetro, partían electrodos de registro que se acopla-

ban a un preamplificador Low- Level DC, a su vez incorporado a un *Polígrafo grass modelo 5*.

La entrada al preamplificador se hizo a través de un circuito en puente de 20 Kohms.

El animal de experimentación recibió respiración artificial, mediante el uso de una bomba tipo Palmer Ideal, en cuya entrada se conectaba un tubo de goma, procedente de una fuente de gases (O₂ y CO₂) suministrado por un aparato modelo Heidbrink. (Foto III).

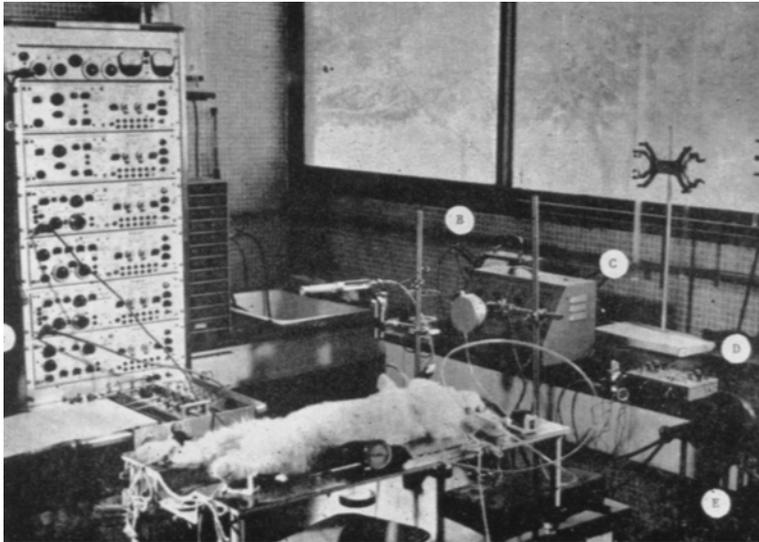


Foto III

- A. Polígrafo.
- B. Teletermómetro.
- C. Estimulador electrónico. D. Potenciómetro.
- E. Bomba de respiración artificial.

III. RESULTADOS

Una vez implantados los electrodos en la oreja del conejo, el influjo de la corriente se hacía errático y en los momentos iniciales no se podía lograr la estabilidad de la línea de registro. (Figura PA).

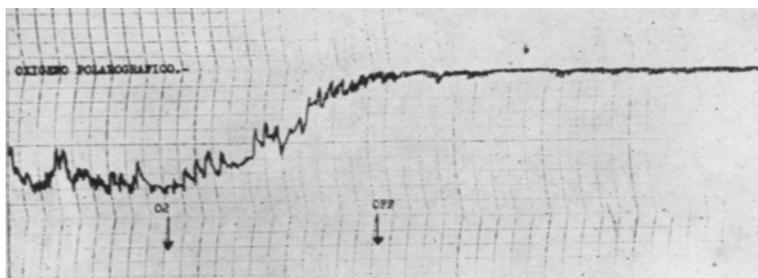


Fig. N° 1. A. Obsérvese la morfología inicial del polarograma. Al principio no se puede lograr la estabilidad del cátodo, haciéndose errático al flujo de la corriente. A la derecha de la figura se disminuye la sensibilidad de registro, para lograr la línea de base.

Aproximadamente a las 2 horas o más, se lograba mantener una línea de base, lo que nos indicaba que el electrodo había alcanzado una sensibilidad uniforme. Antes, el electrodo mostraba tendencia unas veces a aumentar, otras veces a disminuir los niveles de amplitud normales.

Se obtuvieron en la mayoría de los casos, recién estabilizado el electrodo, polarogramas que tenían la morfología que se puede observar en la figura N° 1-B, en la cual el ascenso era lento y gradual, seguido de un descenso de idénticas características.

Se observó que el tejido cutáneo era sensible al aO_2 , iniciándose el ascenso a los 15 ó 20 segundos, después de haber hecho inhalar oxígeno puro (100 por ciento) al animal. A los pocos segundos de haberse alcanzado el plateau del polarograma, hacíamos cesar la introducción del gas, para iniciarse el descenso y alcanzar progresivamente el nivel basal.

En varios experimentos, cuando se presentaron dificultades de inestabilidad del cátodo, por una parte, o posiblemente había desplazamientos del electrodo de su posición inicial de fijación, resultando po-

larogramas no satisfactorios, recurrimos al test intratraqueal, colocando el electrodo activo en la luz de la tráquea, a través de un pequeño orificio practicado entre dos cartílagos.

Mediante este orificio, podíamos descartar defectos de la estructura del electrodo o alteraciones del potencial de 0.6 voltios.

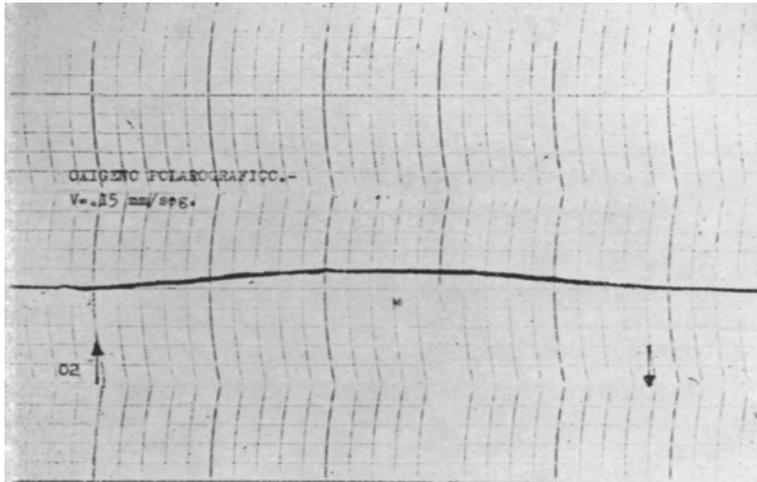


Fig. Nº 1 B. Polargorama obtenido por inhalación de oxígeno puro (100 por ciento). Obsérvese el ascenso lento y gradual, seguido de un descenso de idénticas características.

De esta manera, una vez colocado el electrodo en la tráquea, obteníamos un polarograma, donde se pueden observar ondas de amplitud y frecuencia regulares, dentro de la curva polarográfica general, que probablemente depende de cambios rítmicos, en el tono de los vasos sanguíneos vecinos a la superficie del cátodo. (Figura 2).

Clark sugiere, de igual manera, cuando implanta electrodos en el cerebro del gato, que el transporte del oxígeno por medio de fluidos hacia las células y, por lo tanto, hacia el cátodo puede realizarse por movimientos físicos de los vasos cercanos a la superficie del electrodo.

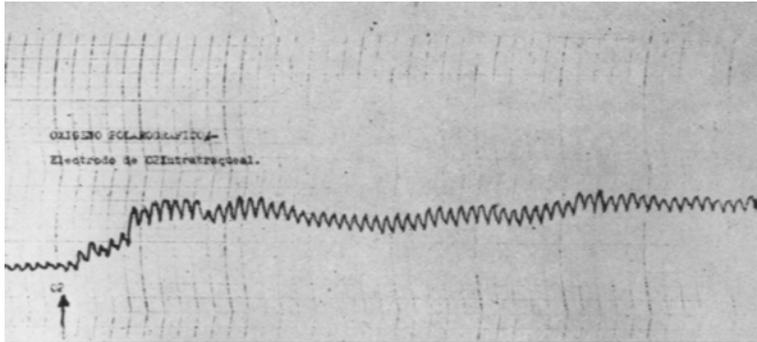


Fig. N° 2. Implantación del electrodo activo (cátodo de oxígeno) en la tráquea del animal. Obsérvanse las ondas correspondientes a cambios rítmicos en el tono de los vasos sanguíneos vecinos a la superficie del cátodo.

Una vez seguros de la integridad biofísica del electrodo, lo retirábamos de la tráquea y procedíamos a la implantación en otro sitio de la oreja del animal.

Nuevamente, después de un corto período de tiempo, se estabilizaba el electrodo activo y obteníamos polarogramas de forma normal. Las causas de la falta de respuestas de] electrodo son tan variadas y complejas, que pueden obedecer a las anotadas anteriormente, groseras, de fácil solución, como de otras ya de orden molecular, difíciles de detectar y en donde juegan papel importante las variaciones del flujo cutáneo, de la temperatura, de la corriente de despolarización, de trastornos del transporte del oxígeno de las células a la superficie del cátodo.

1. EFECTOS DE LA INHALACION DE OXIGENO

Aproximadamente, después de unas tres horas se obtuvieron polarogramas de amplitud ideal. Siempre fue necesario esperar que transcurriera el tiempo anotado anteriormente, desde la implantación de los electrodos y estabilización de los mismos, para obtener resultados satisfactorios.

Como puede observarse en la figura N° 3, se eleva notablemente la curva polarográfica, alcanzando un plateau a los 15 segundos después de haber inhalado oxígeno puro (100 por ciento). Mientras el

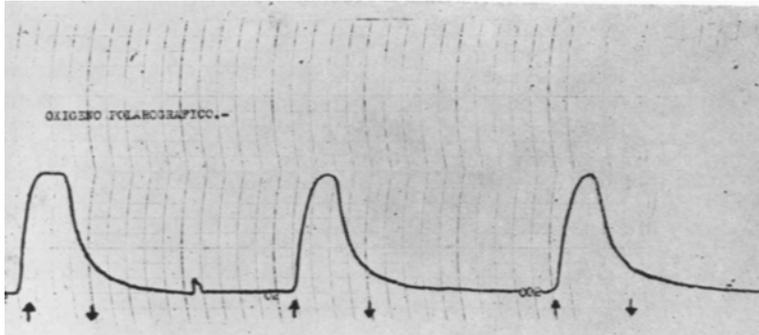


Fig. N° 3. Polarograma obtenido después de haberse estabilizado totalmente el electrodo catódico. El plateau del potencial de O_2 cutáneo se alcanza a los 15 seg.

ascenso es brusco, una vez que deja de respirar la atmósfera del gas, el descenso es más lento, restableciéndose el nivel en un lapso algo mayor.

En muchas ocasiones, observamos como lo demuestra la figura N° 4, que disminuía el potencial de oxígeno cutáneo, a medida que de-

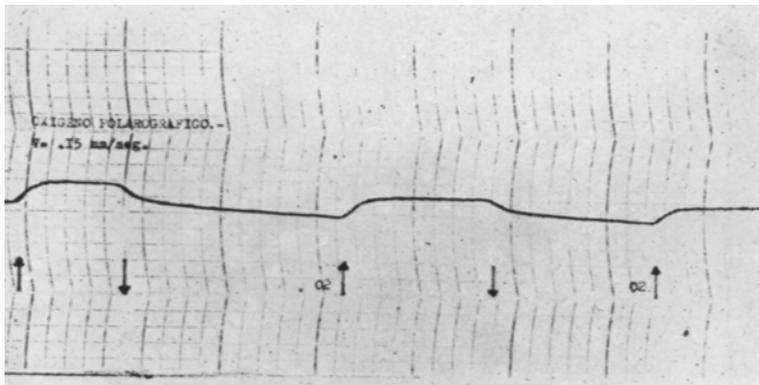


Fig. N° 4. Se observa la disminución del aO_2 cutáneo, cuando el animal es sometido a sucesivas ventilaciones con oxígeno.

jando intervalos muy pequeños, del orden de los 30 segundos, entre una inhalación y otra, sometíamos al animal a hiperventilaciones con oxígeno. Las sucesivas ventilaciones con CO₂ al 5 por ciento elevaban el aO₂ por encima de los valores obtenidos con la inhalación normal de oxígeno.

Este fenómeno encontrado por nosotros en la piel, lo observaron otros autores ² en el cerebro del gato.

De la misma manera cuando el conejo era hiperventilado con aire, a través de la cánula traqueal, la aO₂ disminuía notablemente, alcanzando el potencial de oxígeno cutáneo niveles muy inferiores.

2. EFECTOS DEL CARBOGENO SOBRE EL POTENCIAL DE OXIGENO CUTANEO

Una mezcla de CO₂ 5 por ciento-O₂ 95 por ciento fue introducida a través de la cánula traqueal, observándose que, en el 95 por ciento de los casos, el potencial de oxígeno cutáneo alcanzó niveles mucho más altos que cuando el animal respiraba una atmósfera de oxígeno puro (100 por ciento). Los registros de este fenómeno pueden corroborarse en la figura N° 5. Se presentan en esta gráfica, tres polarogramas, obtenidos uno a continuación del otro, con diferentes morfologías:

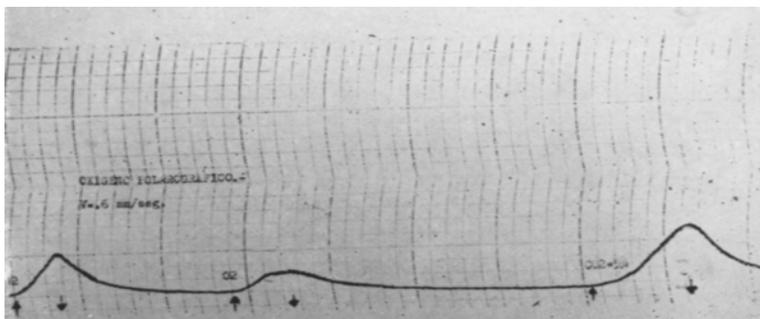


Fig. N° 5. El aO₂ cutáneo alcanza niveles mucho más altos cuando fue introducida en las vías aéreas del animal una mezcla de CO_A 5 por ciento - O₂ 95 por ciento, que cuando respiraba oxígeno puro (100 por ciento).

- 1) La curva inicial corresponde a una respuesta óptima del aO_2 cutáneo.
- 2) Sin haber alcanzado su nivel basal, el primer polarograma, se hace inhalar de nuevo oxígeno puro, obteniéndose una curva de menor amplitud que la primera.
- 3) Después que fue registrado el segundo fenómeno, partiendo de una línea de base, sometimos al animal a la inhalación de carbógeno, al 5 por ciento, obteniéndose un polarograma de gran amplitud, con un ascenso gradual, pero consistente, que alcanzaba pronto un plateau, para luego de suprimir dicha inhalación, presentar un descenso homogéneo.

En un 5 por ciento de los casos, no obtuvimos el aumento manifiesto del aO_2 , pero ante la presencia del gas carbógeno en las vías aéreas del animal, el potencial de O_2 cutáneo fue de la misma altura de los polarogramas obtenidos con el oxígeno puro. (Nunca estuvo por debajo de los niveles de inhalación del oxígeno). Así lo demuestra gráficamente, la figura N° 6

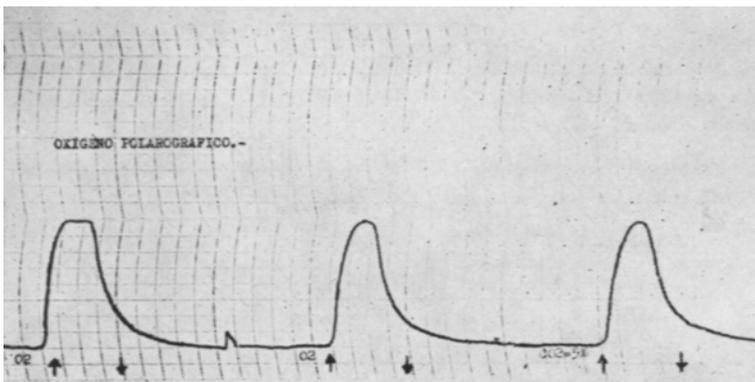


Fig. N° 6. En el 5 por ciento de los casos el aO_2 cutáneo fue de la misma amplitud de los polarogramas obtenidos con el oxígeno puro. Nunca estuvo por debajo de los niveles de inhalación de oxígeno.

Cuando sometíamos al animal a una hiperventilación con carbógeno, a intervalos regulares, las amplitudes de la aO_2 , mantenían igual altura. No así cuando realizábamos el experimento con oxígeno puro. Véase la figura N° 7.

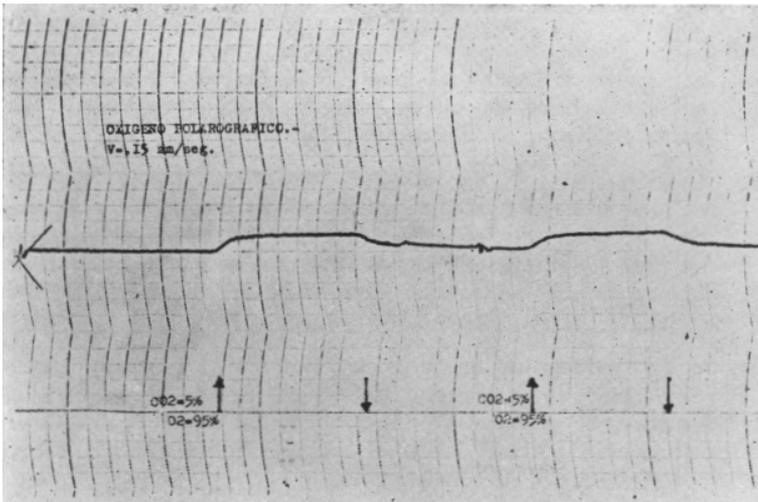


Fig. N° 7. Inhalación de carbógeno: CO, 5 por ciento - O₂ 95 por ciento, a intervalos regulares. Las amplitudes de la aO₂ mantenían igual altura.

Nuestros resultados de las variaciones de la disponibilidad de oxígeno cutáneo son similares a los obtenidos, por otros autores, en el cerebro y en el miocardio.

Empleando mezclas de CO₂ 10 por ciento-O₂ 90 por ciento, obtuvimos ondas de amplitud menor que con el carbógeno al 5 por ciento. (Figura N° 8).

2. EFECTOS DE LA ESTIMULACION DEL SIMPATICO SOBRE EL aO₂ CUTANEO

La estimulación de las fibras simpáticas que inervan la piel, causan vasoconstricción en el área inervada por las fibras estimuladas.

La figura N° 9 muestra los efectos de la estimulación del tronco del simpático, en su porción cervical sobre el aO₂ cutáneo.

Se utilizaron electrodos impolarizables de platino, con los cuales se cargaba el nervio, el cual fue estimulado con un estimulador electrónico modelo 751 A 115 volt. A.C., manteniéndose un rango de intensidad de 3 volts., una duración de 5 milisegundos y una frecuencia de 20 impulsos por segundo. En algunos experimentos la estimulación se hizo utilizando un estimulador Grass modelo S4FR.

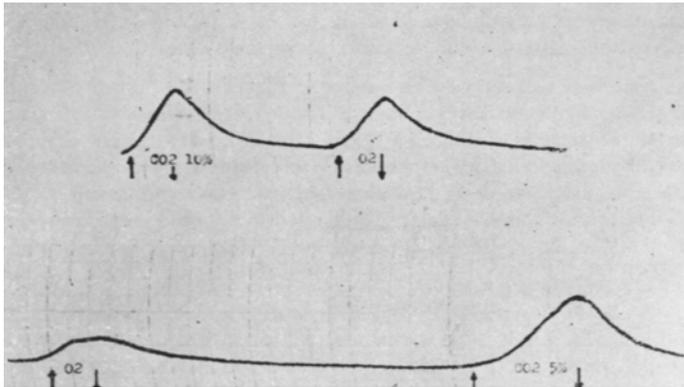


Fig. N° 8. La inhalación del carbógeno al 10 por ciento no aumenta el aO_2 cutáneo en la medida que lo hace el carbógeno al 5 por ciento.

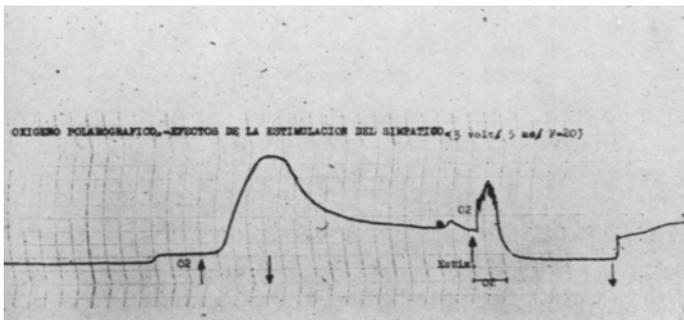


Fig. N° 9. La estimulación del simpático en su porción cervical, disminuye notablemente el aO_2 cutáneo, alcanzando niveles infrabasales. Condiciones estimulación: voltaje: 3 volt., duración: 5 ms. frecuencia: 20 puls./seg.

Se procedió a la inhalación de oxígeno puro (100 por ciento), obteniéndose un polarograma ideal. A los 38,4 segundos, se omitió la oxigenación, disminuyendo la curva progresivamente.

Antes de alcanzar niveles basales se procedió a la estimulación del simpático, siguiendo los parámetros citados anteriormente. Al mismo tiempo, se sometía al animal a nueva inhalación de oxígeno, observándose un aumento de la amplitud del polarograma, probablemente debido a un artefacto de la frecuencia del estímulo, fenómeno que tuvo una brevísima duración, del orden de los 4.8 seg. Pasado este tiempo el aO₂ cutáneo descendió bruscamente, alcanzando niveles intrabasales.

A los 76 segundos, se dejó de estimular el nervio simpático, ascendiendo de nuevo al aO₂ cutáneo, en forma gradual. Durante esta fase del experimento, se mantuvo constante la inhalación de oxígeno puro.

Realizamos otros experimentos, manteniendo durante un tiempo prolongado la oxigenación del animal, al mismo tiempo que se estimulaba el simpático cervical. La figura 10 es notablemente ilustrativa sobre los efectos de la excitación simpática, disminuyendo francamente el potencial de oxígeno de la piel.

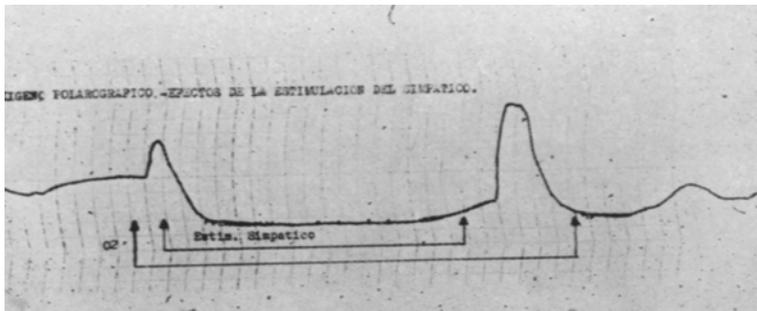


Fig. N° 10. Se mantiene prolongada la oxigenación del animal. Simultáneamente se estimula el simpático. Se mantienen iguales condiciones de estimulación que en el experimento anterior.

En ambos experimentos se mantuvieron iguales condiciones de estimulación (voltaje, duración, frecuencia), así como de la velocidad del papel, y sensibilidad del sistema de registro.

EFFECTOS DE LA ESTIMULACION DEL SIMPATICO SOBRE EL aO_2 CUTANEO Y LA INHALACION SIMULTANEA DE CO_2 AL 5 POR CIENTO EN OXIGENO

Sometimos al animal a la inhalación de una mezcla de CO_2 5% O_2 95%, pudiéndose observar la caída casi instantánea del aO_2 cutáneo, cuando se estimulaba el simpático, en su porción cervical.

No se comprobaron morfologías especiales, en el abatimiento del aO_2 cutáneo, ni diferencia alguna entre la inhalación de oxígeno puro (100 por ciento) y de carbógeno. (Figura N° 11).

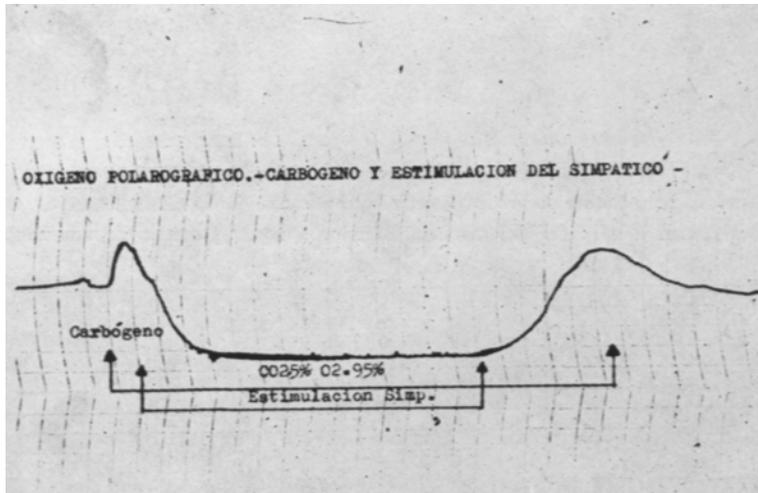


Fig. N° 11. No se observan morfologías especiales en el abatimiento del aO_2 cutáneo, con la inhalación del oxígeno puro (100 por ciento) y carbógeno al 5 por ciento.

4. EFECTOS DE LAS RADIACIONES INFRARROJAS SOBRE EL POTENCIAL DE OXIGENO LOCAL DE LA PIEL

Como se puede observar en la figura N° 12, se registraron dos aspectos del experimento: el inferior, que corresponde a las variaciones

de la temperatura local y el superior, al potencial de oxígeno de la piel. Utilizamos para el estudio térmico, un *telethermometer* de Yellows Springs Instrumental CO. Inc., modelo 44TA.

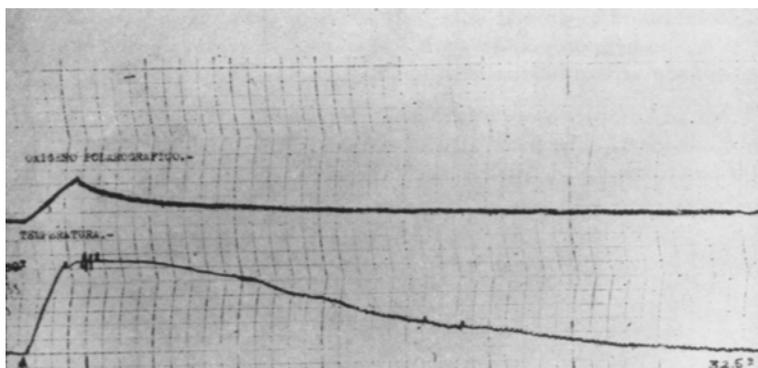


Fig. N° 12. El aO_2 cutáneo se eleva instantáneamente, al mismo tiempo que se registra la temperatura local de la oreja, que alcanza $41^\circ C$, coincidiendo en este punto con el plateau del polarograma. El calor aplicado provenía de una lámpara de rayos infrarrojos.

La fuente de calor la obtuvimos por aplicación directa, sobre la piel de la oreja del animal, de una lámpara de rayos infrarrojos.

El infrarrojo aplicado se hacía a intervalos de tiempo del orden de los 28 seg.

El potencial de oxígeno cutáneo se elevaba instantáneamente, al mismo tiempo que se registraba la temperatura local que alcanzaba niveles de $41^\circ C$, coincidiendo en este punto con el plateau del polarograma. Hacíamos inhalar al animal oxígeno puro durante 50 seg., ganando el aO_2 rápidamente su plateau.

La temperatura local no acusó alteraciones de valor, durante la oxigenación.

Al aplicar de nuevo infrarrojo, los valores de temperatura fueron del orden de los 40°C, notándose una sensibilidad positiva del aO₂ Cutáneo. (Figura N° 13).

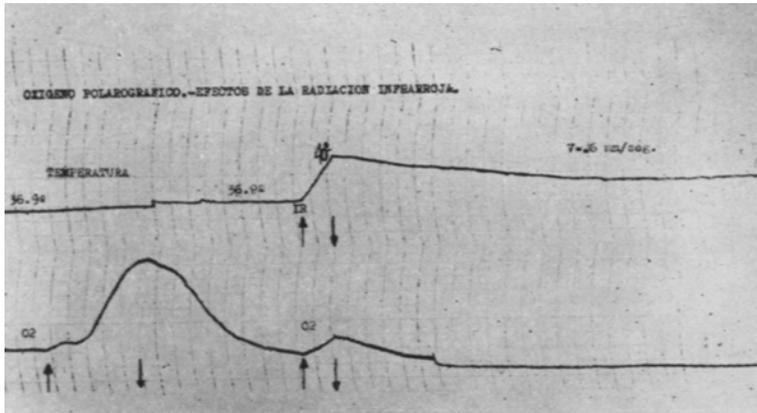


Fig. N° 13. Obsérvese cómo la temperatura local no acusa alteración significativa durante la inhalación O₂ puro (100 por ciento).

En la figura N° 14 se observan los efectos de las radiaciones infrarrojas, que en este caso, se aplicaban ciclicamente durante 60 seg. Nó-

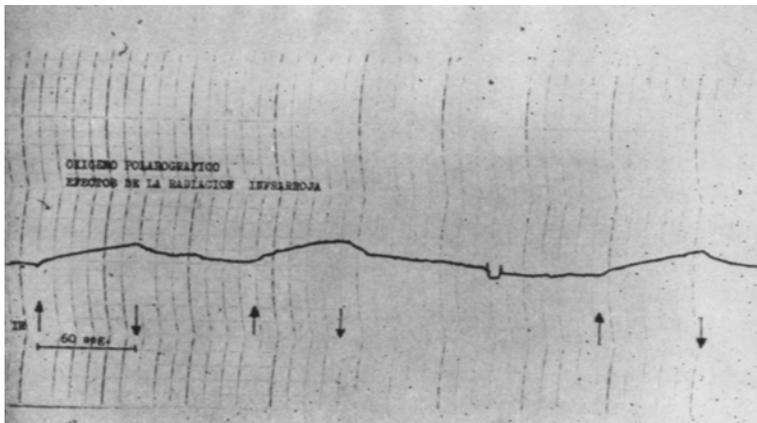


Fig. N° 14. Se observan los efectos de las radiaciones infrarrojas, que en este caso se aplicaban a intervalos regulares de 60 segundo.

tese como las curvas se potencializan sucesivamente, siendo la amplitud del segundo fenómeno de mayor altura que la del primero.

Efectos de las radiaciones infrarrojas sobre el aO_2 cutáneo simultáneamente con estimulación del simpático cervical.

El efecto vasoconstrictor de la estimulación simpática es predominante a pesar del calor local aplicado que eleva la temperatura de niveles basales de $36.5^{\circ}C$. (Figura N° 15).

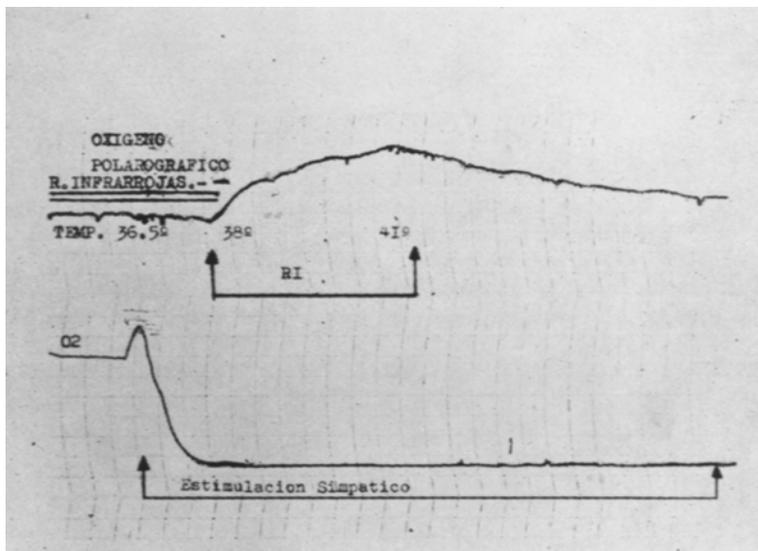


Fig. N° 15. Nótese el poderoso efecto vasoconstrictor de la estimulación simpática, sobre el del calor aplicado, que eleva la temperatura a niveles de $41^{\circ}C$.

Efectos del carbógeno sobre el aO_2 cutáneo y la temperatura local.

Se hizo inhalar al animal, una mezcla de CO_2 5% O_2 95%, observándose que la temperatura se eleva en un grado centígrado. (Figura N° 16).

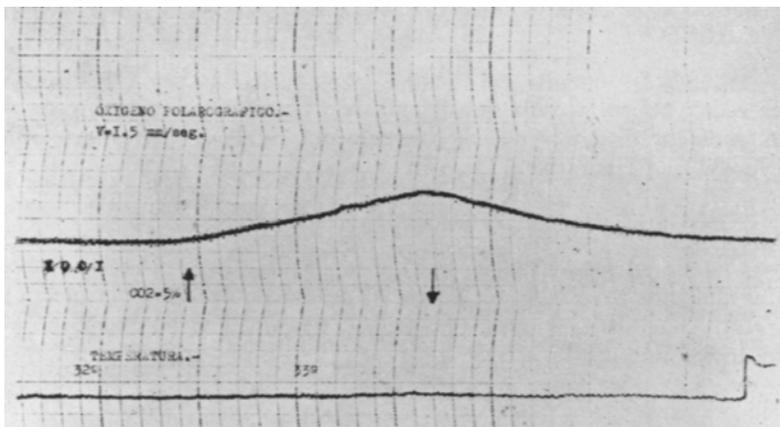


Fig. Nº 16. Al inhalar el animal una mezcla de CO₂ al 5 por ciento - O₂ 95 por ciento, la temperatura se elevó en 1°C.

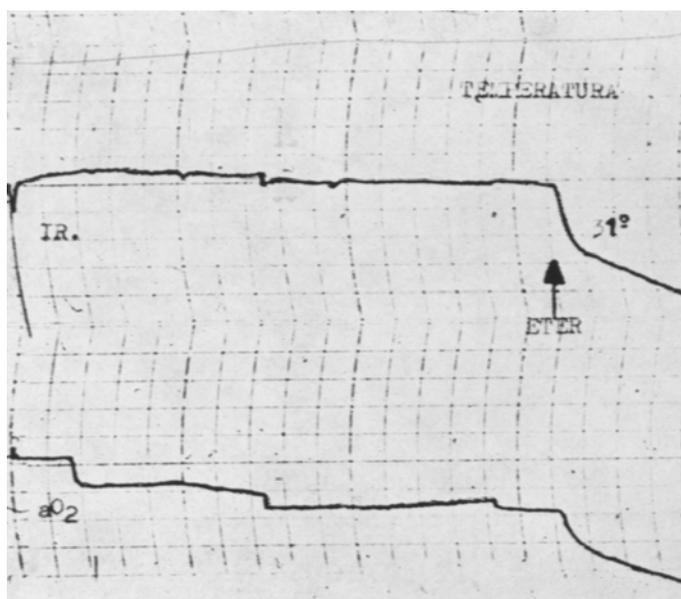


Fig. Nº 17. La aplicación de frío local (éter etílico) abate bruscamente el aO₂ cutáneo.

5. EFECTOS DEL FRIO LOCAL SOBRE EL POTENCIAL DE OXIGENO CUTANEO

Al aplicar, durante un tiempo breve, un algodón empapado de éter etílico sobre la oreja del animal, se observaba la caída brusca del aO_2 cutáneo, disminuyendo la temperatura local a valores del orden de los $31^\circ C$. (Figura N° 17).

6. EFECTOS DE LA ASFIXIA SOBRE EL aO_2 , CUTANEO

Cuando se practicaba el cese de la respiración artificial, se observó el aumento moderado del potencial de oxígeno local de la piel. (Figura N° 18). Otros autores (Mazzella), describen el aumento del aO_2 miocárdico durante la asfíxia.

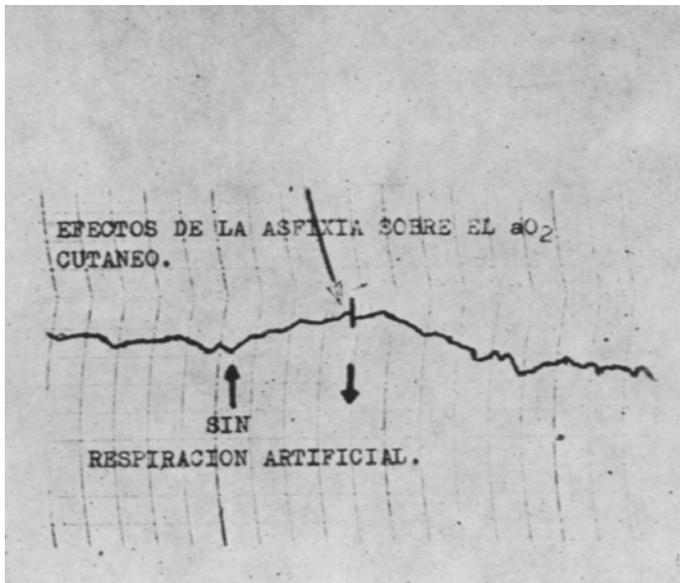


Fig. N° 18. Durante la asfíxia del animal, aumentó la disponibilidad del oxígeno cutáneo.

IV. DISCUSION

El empleo de la técnica de la implantación aguda de electrodos de oxígeno a nivel de la piel y del dermo subyacente, aunque tiene sus limitaciones, constituye un método de investigación específica que nos

permite, al registrar la *disponibilidad del oxígeno local*, detectar las zonas bien oxigenadas o de anoxia cutáneas.

Los que recurren a técnicas biológicas, para medir el consumo de oxígeno (QO_2) (que no es disponibilidad de O_2), como la manométrica de Warburg, si bien permiten la valoración numérica del fenómeno, adolece, por desarrollarse *in vitro*, de todas las influencias dinámicas que el experimento *in vivo* trae consigo.

El método polarográfico, ya sea mediante la implantación aguda o crónica de electrodos de oxígeno, es capaz de proporcionar una información cualitativa de las variaciones del oxígeno local de la piel, ya que el electrodo, al no poder calibrarse, no permite que se traduzca numéricamente el fenómeno.

Desde el punto de vista biofísico, aunque ya se ha desarrollado la teoría de la difusión en electrodos cilíndricos y esféricos y también la corriente de despolarización puede ser traducida (según la Ley de Faraday), a una expresión de tasa de consumo de oxígeno, es decir, de moléculas de oxígeno por unidad de área en la unidad de tiempo; por ello, nosotros no encontramos ventajas en hacer esta conversión, atendiendo a los objetivos de este trabajo.

En vista de que no se conoce la mecánica de los fluidos cerca del cátodo activo, preferimos usar el término disponibilidad de oxígeno o potencial de oxígeno local, (aO_2). Por lo tanto, el transporte del oxígeno por medio de fluidos hacia las células y, por lo tanto, hacia el cátodo, debe realizarse por gradientes de concentración, osmóticos o térmicos, así como por movimientos físicos de los vasos cercanos a la superficie del cátodo. Como anteriormente citamos, Clark ² y otros prefieren usar el término disponibilidad de oxígeno, mejor que el de tensión de oxígeno, puesto que la cantidad de oxígeno, que llega al cátodo aumenta notablemente, por movimientos de fluidos a ese nivel.

Sin embargo, el hecho de que los resultados con los electrodos polarográficos en la piel han sido obtenidos *in situ*, abre caminos para estudiar activamente los mecanismos de respiración cutánea.

Son múltiples los factores que inciden sobre el oxígeno local, sobre su presencia y consumo: contextura de la piel, estado de hidratación local, pilosidad, integridad del substrato anatómico, vascular y nervioso, a nivel del sitio de la implantación, *pH* cutáneo, temperatura,

radiaciones ultravioletas e infrarrojas, histaminodermia, metabolitos locales.

Nuestras observaciones demostraron que la técnica debe desarrollarse en condiciones de gran rigurosidad, debido a que los electrodos empleados, por su gran sensibilidad, pueden aceptar corrientes espurias de cualquiera naturaleza.

Por otra parte, y en nuestro caso particular, el potencial aplicado debe ser constante durante todo el experimento y nunca exceder de 0.6 voltios.

A pesar de los numerosos estudios y experimentos realizados sobre la circulación cutánea, de su control nervioso y de las numerosas variables que actúan en la regulación de la actividad metabólica del flujo cutáneo, no hay en la actualidad hechos definitivos que permitan integrar los conocimientos existentes, que son múltiples, pero aislados, en una verdadera concepción unitaria. Sin embargo, podemos considerar que la *disponibilidad del oxígeno cutáneo* es la manifestación de dos mecanismos fundamentales:

- a) Del flujo arterial a través de la piel, y b) De la tasa de consumo de oxígeno cutáneo.

Los polarogramas obtenidos, cuando hacíamos inhalar al animal oxígeno puro, elevaban el aO_2 de la piel, al reactivar la circulación local. Las pequeñas oscilaciones que presentaban estos polarogramas normales eran debidas a cambios tónicos de los vasos situados en la vecindad del sitio de implantación del cátodo activo.

Krogh considera el bajo nivel de la irrigación sanguínea de la piel, como símbolo de baja tasa metabólica. La disponibilidad de oxígeno cutáneo estaría en razón directa del status arterial local.

Y sería una relación más estable que la que se presenta en el músculo, cuya irrigación es más variable que la de la piel, por sufrir ésta menos cambios durante el ejercicio o el reposo y, además, por presentar una elevada proporción de tejido conectivo y material metabólico inerte (queratina y tejido de fibrosis).

Uno de los hechos que consideramos de importancia, observados por nosotros en el curso de los experimentos, es el que se refiere a la acción de la mezcla de CO_2 5%- O_2 95% sobre el aO_2 cutáneo.

Cuando el animal inhalaba de esta manera el carbógeno, se eleva-

ba en forma evidente la disponibilidad de oxígeno local, más que cuando se hacía la inhalación de O₂ puro (100 por ciento).

En cambio, cuando se empleaban mezclas de CO₂ al 10 por ciento en oxígeno, eran menores las amplitudes de los polarogramas obtenidos, lo que significa que esta mezcla no producía elevaciones del aO₂ cutáneo, tan notables como el CO₂ al 5 por ciento.

Similares resultados presentan estudios hechos por Clark ², Mazze-lla, Méndez Bauer, Escarcena y colab ⁷¹, a nivel del cerebro del gato y del miocardio ventricular de perros y ratas.

Nosotros creemos que el CO₂ actuaría aumentando el flujo cutáneo, mejorando el aporte del O₂ al provocar la abertura de los shunts arteriovenosos, que juegan un papel importantísimo en la circulación de la piel y que son muy abundantes en la oreja del conejo. Estas anastomosis arteriovenosas son muy abundantes en la oreja del conejo. Estas anastomosis arteriovenosas son muy sensibles a los estímulos dilatadores bien sean térmicos, mecánicos y químico (CO₂).

Es un hecho conocido que, en el hombre, las inyecciones subcutáneas de bióxido de carbono provocan vasodilatación de los vasos de pequeño calibre, así como las soluciones de *pH* bajo, en los perros, al ser inyectadas provocan un aumento evidente del flujo cutáneo, mientras que soluciones de *pH* elevado, abaten este flujo.

Estos efectos del carbógeno (CO₂ 5%- O-- 95%) sobre el aO₂ cutáneo sugieren la posibilidad de empleo de esta mezcla en aplicaciones locales o sistémica en aquellos casos de anoxia cutánea y de algunas enfermedades vasculares periféricas donde el trastorno sea esencialmente anóxico local.

Cuando estimulamos el simpático en su porción cervical, obtuvimos un rápido abatimiento del aO₂ cutáneo

De modo que, la estimulación de las fibras simpáticas, que inervan la piel, causa vasoconstricción cutánea en el área inervada por las fibras estimuladas.

En la oreja del conejo, las anastomosis arteriovenosas son extraordinariamente efectivas en este control.

Los shunts arteriovenosos de la oreja del conejo son posiblemente inervados por fibras simpáticas que se contraen o dilatan de acuerdo a los diferentes estímulos.

Por otra parte, cuando sometíamos la piel del conejo a la acción del frío local, se observaba que rápidamente se abatía la disponibilidad de oxígeno cutáneo.

Con respecto a la interpretación de este fenómeno, hay por lo menos dos mecanismos básicos de acción:

1) Que, a partir de receptores cutáneos al frío, se originen impulsos aferentes, que asciendan a los centros vasomotores, o

2) Que la sangre enfriada de la piel de la oreja del animal retorne y alcance, estimulando, los centros termosensitivos hipotalámicos.

Al mismo tiempo, habría liberación de catecolaminas adrenales, que potencializarían este reflejo vasoconstrictor.

La asfixia del animal eleva moderadamente el aO_2 cutáneo. Posiblemente el status asfíctico origine la liberación de catecolaminas y, por ende, aumento de la presión sanguínea arterial, que conjuntamente serían los responsables del aumento de la disponibilidad del oxígeno cutáneo.

Pequeñas arteriolas, metarteriolas, esfínteres precapilares y venas participan en esta respuesta. Se debe asumir, además, que las pequeñas arterias y arteriolas cutáneas están bajo la influencia de continuos impulsos eferentes constrictores que colocan a los vasos en un estado de contracción tónica.

Actualmente, Adrian, Bronk y Phillips " afirman que las fibras simpáticas transportan constantemente descargas eléctricas, las cuales son principalmente concernientes a la vasoconstricción. Estas descargas fluctúan en forma continua, intermitentemente rítmica.

La aplicación de radiaciones infrarrojas sobre la piel, donde estaban implantados los electrodos polarográficos, aumentó instantáneamente la disponibilidad del oxígeno cutáneo.

Se demuestra que la tensión de este gas aumenta con la elevación de la temperatura.

Se sugiere, según nuestras observaciones, que el calor local aumenta el flujo cutáneo, hay mayor separación del oxígeno de la hemoglobina y mayor aporte de oxígeno a la piel.

Durante el calentamiento local, los shunts están abiertos, pero la sangre fluye a través de los capilares, a pesar de la cantidad de sangre desviada por las anastomosis. Por lo tanto, se disipa calor.

V. RESUMEN

Se estudian las variaciones del potencial de oxígeno cutáneo de la piel de la oreja del *Lepus* (mamífero del orden *Lagomorpha*), mediante la técnica de implantación aguda de electrodos polarográficos.

Se hace énfasis en la biofísica de los electrodos implantados, prefiriéndose usar indistintamente el término disponibilidad de oxígeno o potencial local de oxígeno (aO_2), mejor que el de tensión de oxígeno.

Creemos, que a pesar de sus limitaciones, constituye un método de investigación específica, que permite cualitativamente determinar *in vivo* el potencial de oxígeno local (aO_2) de la piel, detectando las zonas bien oxigenadas o de anoxia..

La inhalación de una mezcla de CO_2 5%- O_2 95% elevó notablemente el aO_2 cutáneo, más que el oxígeno puro (100 por ciento).

Las mezclas de carbógeno que contenían CO_2 al 10 por ciento en oxígeno no aumentaron la disponibilidad del oxígeno cutáneo, en grado mayor que la inhalación de CO_2 5%- O_2 95%.

Se indica la posibilidad de utilización de esta mezcla de CO_2 al 5 por ciento en oxígeno, en aquellos casos de anoxia cutánea.

Se sugiere que las oscilaciones de los polarogramas normales son debidas a cambios rítmicos del tono de los vasos situados en la vecindad del sitio de implantación del cátodo activo.

La estimulación del simpático en su porción cervical abate el aO_2 cutáneo, desapareciendo las oscilaciones del polarograma normal.

Las radiaciones infrarrojas aumentan el potencial local del oxígeno cutáneo.

El frío aplicado localmente disminuye el aO_2 de la piel.

La asfíxia aumenta moderadamente el potencial local del oxígeno cutáneo.

VI. SUMMARY

Oxygen availability was studied by means of acute implanted polarographic cathodes in the skin of *Lepus* ear. The biophysics of oxygen cathode was stressed, therefore, we prefer to use the term oxygen availability (aO_2) rather than oxygen tension.

In spite of limited accuracy of the polarographic, we believe that it is a technic of especific cualitative investigation in vivo of the O_2 skin local potential to detect either well or poor skin oxygenation.

Breathing 5% CO_2 - 95% causes the mean a O_2 increase significantly.

Breathing pure oxygen there was an increase of a O_2 in a lesser degree.

When the CO_2 content of the mixture was increased to 10% caused a raise in a O_2 lower than does 5%- CO_2 , 95% O_2 .

We considered the possibility of the use a mixture 5% CO_2 -95% O_2 in those case cases of skin conditions accompanied by local anoxia phenomena.

Sympathetic stimulation resulted in a fall of oxygen availability of the skin. The morphology of the normal polarogram was discussed. The origen of the small oxygen waves were probably due to tonic changes of the neighboring vessels to the detecting cathode.

Local infrared radiation increased the oxygen local potential of the skin.

Local cold causes a decrease of the O_2 availability of the skin.

During asfictic conditions, there is a fair increase of the a O_2 of the skin. This paradoxic response was discussed.

VII. AGRADECIMIENTOS

Al profesor Miguel A. Patetta Q., por sus valiosas sugerencias y estímulos en el desarrollo del trabajo.

De igual manera, a los colegas del Departamento, compañeros de inquietud, así como a la señorita Amanda Mujica y señora Berta de Mayoral por su eficaz colaboración técnica en la confección del material

de imprenta.

Al personal técnico-auxiliar de la Cátedra. Al señor López Orihuela, por su ayuda en la realización del material fotográfico.

VIII. BIBLIOGRAFIA

1. Quiroga I., Marcial, y Guillot, Carlos F.: *Investigación Dermatológica*. 1950.
2. Lela/ ND C. Clark, jr., George Misrahy and Phyllis Fox.: "Chronically Implanted Polarographic Electrodes". *J. Appl. Physiol.* 13 (1): 85-91, 1958.
3. Clark, L. C., jr.: *Battelle-Fels Symposium on Psychochemistry*, October, 1955.
4. Clark, J. C., jr. and G. Misrahy.: *Fed. Proc.* 16: 22, 1957.
5. Kaplan, S., E. C. Matthews, L. Schwad and L. C. Clark, jr.: *J. Thoracic Surg.* 32: 576. 1956.
6. Emerson, J. D., J. M. Bruhn and G. M. Emerson: *J. Appl. Physiol.* 7: 461, 1955.
7. Clark, L. C., jr. R. Wolf, D. Granger and Z. Taylor: *J. Appl. Physiol.* 6: 189, 1953.
8. Benington, F., R. D. Morin and L. C. Clark, jr.: *J. Org. Chem.* 19: II. 1954.
9. Benington, F., R. D. Morin and L. C. Clark, jr.: *J. Org. Chem.* 20: 1292, 1955.
10. Benington, F., R. D. Morin and L. C. Clark, jr.: *J. Org. Chem.* 22: 332. 1957.
11. Clark, L. C. jr., R. P. Fox, R. Morin and F. Benington: *J. Nerv. Ment. Dis.* 124: 466, 1956.
12. Conroe, J. H.: *Fed. Proc.* 16: 665, 1957.
13. Clark L. C. jr.: *Tr. Am. Soc. for Art. Int. Organs* 2: 41, 1956.
14. Misrahy, G. A., E. W. Shinabarger and K. M. Hildreth: *WADC Technical Report* 57-467, AD- 130956. 1957.
15. Guillaume, J. and P. Danny: *J. Physiol.*, París, 44 431.
16. Barcroft, H.: "Peripheral circulation". *Ann. Rev. Physiol* 16: 215, 1954.
17. Burton. A. C.: "Relation of structure to function of the tissues of the wall of blood vessels". *Physiol. Rev.*, 34: 619. 1954.

18. Burton, A. C. and Rosenberg, E.: "Effects of raised venous pressure in the circulation of the isolated perfused rabbit ear". *Am. j. Physiol.*, 185: 465, 1959.
19. Denison. A. B., jr., Spencer, M. P. and Green, H. D.: "Asquare wave electromagnetic flowmeter for aplication to intact blood vessels". *Circ. Res.*, 3: 39, 1955.
20. Guyton, A. C.: "Peripheral circulation". *Ann Rev. Phy siol.*, 21: 239, 1959.
21. McDowall, R. J. S.: *The control of the circulation of the Blood (Suppl. vol.)*, London, Dawson and Sons, 1956.
22. A. C. Burton, Ma, PhD (Dept. of Biophysic, Univ. of Western Ontario) : A critical survey o f methods available o f the measurement of human peripheral blood flow.
23. G. E. Burch, jr. M. D. (Dept. of Medicine Tulane Univ.: Louisiana): A Method for recording and a study o f the venous occlusive technique for measuring the time course of the rate of outflow in the finger tip of man during a single pulse cycle.
24. R. J. Whitney, PhD (M. R. C. Climate and Workin Efficiency Unit. Oxford) : The electrical strain gauge method for measurement of peripheral circulation in man.
25. G. H. Algire (Nat. Cancer Institute, Bethesda, Maryland) : The transparent chamber technique for observation of the peripheral circulation, as studied in mice.
26. U. S. von Euler, M. D. (Fysiologiska Inst. Karolinska Inst., Stochholm) : Differential secretion o f noradrenaline and adrenaline from the suprarenal gland.
27. R. F. Whelan, M. D., BCh (Dept of Physiology, Queen's Univ. Belfast) : The effect of adrenaline and noradrenaline o f the blood flow throuhg human skeletal muscle.
28. L. D. Carlson (Dept. of Fysiology and Biophysics, Univ. of Washington, Seattle) : Changes in peripheral circulation with exposure to cold.
29. A. D. M. Greenfield, DSc, MB (Dept. of Fysiology, Queen's Univ., Belfast) : The response to cold in the range 0-10°C.

30. D. McK. Kerslake, PhD. MB, BS (R. A. F. Inst, of Aviation Medicine, Farnborough, Hants) and K. E. Cooper, MSc, MB, BS, (M. R. C. Labs, Hampstead) : Factors concerned in the regulation o f skin blood flow.
31. H. Barcroft, Ma, MD, FRS. (Sherrington School of Physiology, St. Thomas's Hospital), and A. C. Dornhorst, MD, MRCP Dept. of Medicine, St. Thomas's Hospital, London) : Blood flow response to temperature and ather factors.
32. G. Weddell, DSc. MD, and W. Pallie, MB, BS (Dept. of human anatomy, Univ. of Oxford) : Observations to the Neurohistology o f cutaneous blood vessels.
33. K. E. Cooper, MSc, MB (M. R. C. Labs., Hampstead), and D. McK. Kerslake, RLD, MB, BS (R. A. F. Inst. of Aviation Medicine, Farnborough, Hants) : Reflex control o f the cutaneous circulation.
34. A. B. Hertzman: The problem of vasomotor denervation. Dept. of Physiology, St. Louis Univ., Missouri
35. Grand, R. T.: Vascular reactivity following sympathectomy. M. R. C. Clin Res. Unit, Guys Hospital, London.
36. Dible, J. H.: Some anatomical observations on peripheral ischaemia in man. Dept. of Pattology, Post-graduate Medical School of London, Hammersmith.
37. Shepherd, J. T.: The mechanism of the Raynaud's prenome non in patientst with high serum titres f o cold agglutinins. Dept. of Physiology, Queen's Univ., Belfast.
38. Guttmann., L.: Visceral activity and peripheral circulation in the spinal man. Spinal Injuries Centro Aylesbury, Bucks.
- 39* Martin, P.: Some aspects o f functional disorders o f the circulation. Dept. of Surgery Post-grad. Medical School of London, Hammersmith.
40. Craigie Horne, E.: Practical Anatomy o f the rabbit. University of Toronto Press. 1960.
41. Rothman, Stephen: Physiology and Biochemistry of the Skin. The University of Chicago. 1965.

-
- Véase: Peripheral circulation in man. A Ciba Foundation Symposium. 1954.

42. Spalteholz, W.: "Blutgefäße Der Haut", in: Uebersohn, *Handb. d. Haut - U. Geschlechtskr.*, 1 1: 379-433. Berlin J. Springer, 1927.
43. Wetzel, N. C. and Zottermans I.: "On differences in the vascular colouration of various regions of the normal human skin", *Heart* 13: 358-70, 1926.
44. Nesterow. Quoted by Müller, O.: "Die Kapillaren der Menschlichen Körperoberfläche in gesunder and Kranken Tagen Stuttgart": F. Enke, 1922.
45. Krogh, A.: *The Anatomy And Physiology of Capillaries*. New Haven, Conn. Yale University Press, 1929; Third Printing, 1936.
46. Chambers, R. and Zweifach, B. W.: "Topography and function of the mesenteric capillary circulation". *Am. J. Anat.* 75: 173-205, 1944.
47. Zweifach, B. W.: *Peripheral Circulation and Rev. Physiol.* 10: 225 58- 1948.
48. Schor, E.: "The participation of Hepato-Renal factors in experimental renal hypertension". In: Bell, E. T. (ed.) *Hypertension: A Held At the University of Minnesota, September 18-20, 1950*, pp. 79-93. Minneapolis University of Minnesota Press, 1951.
49. Clark, E. R.: "Arterio Venous Anastomosis", *Physiol. Rev.*; 18: 229 47. 1938.
50. Grant, R. T. and Bland, E. F.: "Observation on arteriovenous Anastomosis in Human skin and in bird's foot with special reference to the reaction to cold: *Heart*, 15: 385 - 407, 1931.
51. Richards, R. L.: *The Peripheral circulation in health and disease*. Edimburgh: E. & Livingstone, Ltda. 1946.
52. Masson, P.: *Le glomus Neurovascular des régions tactiles et ses tumeurs. Les glomus neurovasculaires Histophysiologie of Policard, Paris, Hermann & Co., 1937.*
53. Adrian, E. D.; Bronk, D. W. and Phillips, G.: "Discharges in mammalian sympathetic nerves". *J. Physiol.* 74: 115-33, 1932.
54. Burton, A. C. and Taylor, R. M. A.: "Study of the adjustment of peripheral vascular tone to the requirements of the regulation of body temperature". *Am. J. Physiol.* 129: 565-77, 1940.

55. Ranson, S. W. and Billingsley, P. R.: "Vasomotor reactions from stimulation of the floor of the fourth ventricle. Studies in vasomotor reflex arcs. III". *Am. J. Physiol.* 41:85-90-1916.
56. Grimson, K. S.: "Simpathectomy and the circulation. Anatomic and physiologic considerations and early and late limitations", *Surgery*, 19: 277-98, 1946.
57. Stein, I. D. Harpoder, K. and Byer, J.: "Effete of sumpathectomy in the human limb". *Am. J. Physiol.* 152:499-504, 1948.
58. Landis, E. M.: "Peripheral circulation", *Ann. Rev. Physiol.* 2: 125-50, 1940.
59. Gilliat, R. W.; Gutman, L. and Whitteridge, D.: "Inspiratory vasoconstriction in patients after spinal injuries", *J. Physiol.* 107: 67-75, 1948.
60. Dowman, C. B. B.; Goggio, A. F.; Mc Swiney, B. A. and Young, M. H. C.: "Vasomotor responses from the paws of a cat". *J. Physiol.* 96: 14P-15P, 1939.
61. Whitcher, C. E. and Griffith, F. R., jr.: "A possibble role of the skin in the effect of adrenalin on body temperature and respiratory metabolism". *Am J. Physiol*, 156-114-16, 1949.
62. Coon, J. M. and Rothmna, S.: "The nature of the pilomotor response to acetylcholine. Some observations on the Pharmacodymics of the skin", *J. Pharmacol. & Exper. Therap.* 68: 301-11, 1940.
63. Warren J. V.; Romano J., and Stead E. A. jr.: "Blood flow in the hand and forearm after paravertebral block of the simpathetic ganglia. Evidence against sympathetic vasodilator nerves in the extremities of man", *J. Clin. Investigation*, 21: 665 73, 1942.
64. Sarnoff, J., and Simeone, F. A.: "Vasodilator fibers in the human skin", *J. Clin. Investigation* 26: 453-59, 1947.
65. Severinghaus, J. W. and Bradley, A. F.: "Electrodes for Blood P02 and PCO2 determination" *J. Appl. Physiol.* 13: 515, 1958.
66. Frederich Urbach: "Effects of oxigen breathing on tumos oxigen measured polarographically. Vol 13, pág. 61, 1958.
67. Creese Richard: *Recen Advances in Physiology*, 1963.
68. Cater, D. B.: "Oxigen Tension and Oxidation-Reduction in Living Tissues", *Progress in Biophysics*, vol. 10: 183-187, 1960.

69. Sayen, J. and col.: "Polarographic Oxygen, the Epicardial Electrocardiogram and muscle contraction in Experimental Acute Regional Ischemia of the Left Ventricle". *Circulation Res.* vol. 6: 779-198.
70. Escarcena, L. A.: Roig, J. A. Villar, J. L. and García Aust, E.: "Experimental Study Intracranial Pressure. III. Changes of Brain Oxygen Concentration". *Acta Neurol. Latinoamer.*, vol. 10:35-48, 1964.
71. Mazzella H., Méndez Bauer C., Escarcena L. A., Planel L. R. García D., Frilleri N.: "Cambios en el Oxígeno Polarográfico provocados por el carbógeno, por Catecolaminas, por Oclusión de Carótidas y por diversos fármacos". *Anales de la Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay*, 1966.
72. Awar, O., and R. J. Winzler: "Electrochemical determination of the oxygen content of blood". *J. Lab. Clin. Med.* 58: 489, 1961.
73. Clark L. C. jr.: "Continuous recording of blood oxygen content". *Surg. Forum* 9: 143 - 144, 1960.
74. Fisher, R. A.: *Statistical Methods for Research Workers* (12 ed.), Edinburgh, Scotland: Oliver and Boyd, 1954.
75. Hedley-Whyte, J. and M. B. Laver: "O₂ solubility in blood and temperature correction factors for PO₂". *J. Appl. Physiol.* 19: 901-906 1954.
76. Hedley-Whyte, J; E. P. Radford, Jr. and M. B. Laver: "Nomogram for temperature correction or electrode calibration during PO₂ measurements". *J. Appl. Physiol.* 20: 785-786. 1965.
77. Hodgman, C. D. (editor) : *Handbook for Chemistry and Physics* (44 th ed.) Cleveland, Ohio: Chemical Rubber Publishing. Co. 1962-1963.
78. Laver M. B. and A. Seifen: "Measurement of blood oxygen tension in anesthesia". *Anesthesiology* 26: 73-101, 1965.
79. Maio. D. A. and J. R. Neville: "Polarographic determination for oxygen content and capacity in a single blood sample". *Federation Proc.* 23: 468, 1964.
80. Neville J. R. A.: Simple and rapid polarographic method for blood oxygen determination". *J. Appl. Physiology.* 15: 717-722. 1960.
81. Scholander P. F.: "Analyzer for accurate estimation of respiratory gases in one-half cubic centimeter samples". *J. Biol. Chem.* 167: 235250, 1947.

82. Dewey, D. L. and L. H. Gray: "The use of the "Hersch cell" for the measurement of oxygen in biological materia". J. Polarog, Soc. 7: 15-25. 1961.
83. Laver. M. B., A. J. Murphy, A. Soifen, and E. P. Radfo_d Jr.: "Blood oxygen, content measurements using the oxygen electrode". J. Appl. Physiol. 20: 1063-1960.
84. Polgar, G. and R. E. Forster: "Measurement of oxygen tension in unstirred blood with a platinum electrode". J. Appl. Physiol. Appl. Physiol. 15: 706-711. 1960.
85. Biomedical Electronics (Howar M. Yanof), pág. 205. Cap. 9.

NUEVO TRATAMIENTO DE LA BLENORRAGIA

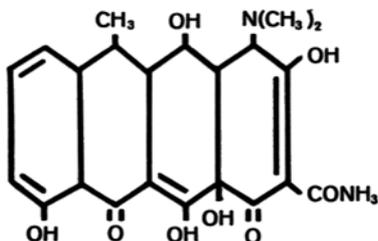
AGUDA *

Dr. CARLOS JULIO ALARCON **

Dr. LUIS GOMEZ CARRASQUERO ***

La Doxiciclina, nombre genérico de a-6-deoxi-5-oxitetraciclina, es un nuevo antibiótico perteneciente al grupo de las tetraciclinas, que se obtiene sintéticamente por hidrogenación de la metaciclina.

Su fórmula estructural se expresa a continuación:



La Doxiciclina aventaja a las otras tetraciclinas por su notable absorción, casi completa, después de su administración por vía oral, y por la duración prolongada de su actividad antibacteriana *in vivo*. Debido a ello, la administración de una sola dosis de Doxiciclina al día, propor-

* Trabajo realizado en el Dispensario Antivenéreo de Petare, Unidad Sanitaria del Este. Caracas, Venezuela.

** Profesor Titular y jefe de la Cátedra de Dermatología de la Universidad Central de Venezuela. Hospital Universitario. Caracas. Médico Jefe, División Nacional de Venereología, Ministerio de Sanidad y Asistencia Social. Caracas, Venezuela.

*** Instructor de la Cátedra de Dermatología de la Universidad Central de Venezuela. Hospital Universitario Caracas. Médico Especialista I, Unidad Sanitaria del Este, Caracas, Venezuela.

ción efectos terapéuticos, logrados por otras tetraciclinas, con la administración de múltiples dosis. La absorción de Doxiciclina no es influenciada por la ingestión de alimentos o leche.

Dicha droga nos fue proporcionada gentilmente, para su evaluación, por los Laboratorios Pfizer.

MATERIAL Y METODOS

Fueron seleccionados 109 casos de blenorragia aguda, en todos los cuales se efectuaron tres frotis, con el fin de identificar el germen causal.

Dichos frotis se hicieron antes de empezar el tratamiento, al término del mismo y 10 días después, catalogándose los resultados como buenos, regulares y malos, en atención a la desaparición clínica y bacteriológica de infección, a la persistencia bacteriológica pero curación clínica de la misma, o a la existencia de infección clínica y bacteriológica, respectivamente.

En el tratamiento de dichos pacientes ensayamos cinco esquemas de tratamiento, con el fin de determinar la efectividad y ventajas de cada uno de ellos.

Muchos de los enfermos que constituyen nuestro grupo habían sido sometidos a tratamiento previo con diversas drogas, sin que con ellas se lograra respuesta satisfactoria.

Todos los pacientes sometidos a tratamiento con Doxiciclina, fueron observados muy de cerca con el fin de determinar la aparición de efectos secundarios que pudieran incriminarse al uso de la droga.

Los resultados obtenidos los expresamos en los diferentes cuadros estadísticos en términos de cifras absolutas y porcentajes.

DOSIFICACION

Se eligieron cinco esquemas de tratamiento, utilizando en cuatro de ellos una dosis total de droga de 400 mg y en el restante se administró una dosis total de 300 mg.

Dichos esquemas de dosificación se exponen a continuación. (Cuadro I).

CUADRO I

<i>Esquema de tratamiento A:</i>	
Duración del tratamiento	1 día
Cantidad de droga	100 mg
Dosificación	400 mg Stat
<i>Esquema de tratamiento B:</i>	
Duración del tratamiento	1 día
Cantidad de droga	400 mg
Dosificación	200 mg dosis inicial + 200 mg a las 6 horas
<i>Esquema de tratamiento C:</i>	
Duración del tratamiento	1 día
Cantidad de droga	300 mg
Dosificación	300 mg Stat
<i>Esquema de tratamiento D:</i>	
Duración del tratamiento	2 días
Cantidad de droga	400 mg
Dosificación	200 mg dosis inicial + 200 mg a las 24 horas
<i>Esquema de tratamiento E:</i>	
Duración del tratamiento	3 días
Cantidad de droga	400 mg
Dosificación	200 mg dosis inicial + 100 mg cada 24 horas 2 días

El total de 109 casos fue distribuido en la siguiente forma, de acuerdo al esquema de tratamiento utilizado. (Cuadro II).

CUADRO II

<i>Esquema de tratamiento</i>	<i>Número de casos</i>	<i>Porcentaje</i>
A: 400 mg Stat.	25	22.93%
B: 200 mg dosis inicial + 200 mg a las 6 horas	57	52.29%
C: 300 mg Stat.	7	6.42%
D: 200 mg dosis inicial + 200 mg a las 24 horas	10	9.17%
E: 200 mg dosis inicial + 100 mg cada 24 horas por 2 dosis	10	9.17%

RESULTADOS

A continuación exponemos el número de casos tratados con los diferentes esquemas, así como los resultados obtenidos con cada uno de ellos. (Cuadro III).

C U A D R O I I I

Esquema de Tratamiento	Casos	Sin			Control
		Buenos	Regular	Malos	
A: 1 día (400 mg) 400 mg Stat.	25	21 (84%)	2 (8%)	1 (4%)	1 (4%)
B: 1 día (400 mg) 200 mg dosis inicial + 200 mg a las 6 horas	57	54 (94.73%)	1 (1.75%)	1 (1.75%)	1 (1.75%)
C: 1 día (300 mg) 300 mg Stat.	7	4 (57.14%)		1 (14.82%)	
D: 2 días (400 mg) 200 mg dosis inicial + mg a las 24 horas	10	6 (60%)	2 (20%)	1 (10%)	1 (10%)
E: 3 días (400 mg) 200 mg dosis inicial + 100 mg cada 24 horas por dos dosis	10	6 (60%)	2 (20%)	2 (20%)	

Es necesario destacar que muchos de estos pacientes habían sido sometidos, con anterioridad, a tratamiento con diversos antibióticos, sin lograr éxito terapéutico con el uso de los mismos.

A continuación exponemos, en términos de cifras absolutas y porcentajes, y en atención al esquema de tratamiento utilizado, el número de pacientes que recibieron tratamiento previo con otras drogas. (Cuadro IV).

CUADRO IV

Esquema de tratamiento	Tratamiento anterior	Número de casos	Porcentaje	
A (Fueron tratados con Doxiciclina)	25 casos	Penicilina	4	16%
		Cloranfenicol	1	4%
		Penicilina G benzatínica	1	4%
			6	24%
B (Fueron tratados con Doxiciclina)	57 casos	Penicilina	8	14.03%
		Penicilina G benzatínica	2	3.50
		PAM	9	15.78
		Demetilclortetraciclina	1	1.75
		Oxitetraciclina	1	1.75%
		Turopol	1	1.75%
	22	38.56%		
C (Fueron tratados con Doxiciclina)	7 casos	Cloranfenicol	1	14.28%
		Penicilina	1	14.28%
		Penicilina G benzatínica	1	14.28%
		Demetilclortetraciclina	1	14.28%
		Metaciclina	1	14.28%
		Oxitetraciclina	1	14.28%
	6	85.68%		
D (Fueron tratados con Doxiciclina)	10 casos	Penicilina G benzatínica	1	10
		Demetilclortetraciclina	1	10
		PAM	1	10%
		Palciclina	2	20
		Penicilina	1	10%
			6	60%
E (Fueron tratados con Doxiciclina)	10 casos	Palciclina	1	10
		Penicilina	1	10%
		Cloranfenicol	1	10
			3	30%

La droga se mostró de una tolerancia excelente, en cuanto a efectos secundarios, pues sólo se observaron ligeros trastornos, traducidos por náuseas, mareos y cefaleas pasajeras que, por lo demás, no hicieron necesario discontinuar el tratamiento.

En un total de 109 casos tratados con Doxiciclina, sólo se presentaron efectos secundarios en 6 ocasiones, recayendo los mismos en aquellos pacientes que fueron sometidos a esquemas de tratamientos A (3 casos), B (2 casos) y C (1 caso).

Dicho total de 6 casos representa 5.5 por ciento en términos de porcentaje, lo cual revela en forma determinante, la excelente tolerancia de la droga.

RESUMEN

El propósito de este trabajo ha sido el de evaluar el efecto terapéutico de un nuevo antibiótico, la Diox ciclina, en el tratamiento de la blenorragia aguda. Se ensayó la droga en 109 casos, utilizando diversos esquemas de tratamiento. Los resultados logrados pudieron ser catalogados como excelentes, como así mismo la tolerancia del medicamento.

CONCLUSIONES

1º) La Doxiciclina se mostró muy eficaz en el tratamiento de la blenorragia aguda.

En un total de 109 casos tratados, se obtuvieron los siguientes resultados:

Excelente	83.48%
Bueno	8.25%
Regular	5.50%
Perdidos	2.75%

2º) De los cinco esquemas de tratamiento utilizados, con el que se obtuvieron mejores resultados fue con el tipo B -1 día de tratamiento (400 M-G) 200 MG. Dosis inicial + 200 MG a las 6 horas- que determinó un porcentaje de curación de 94.73 por ciento.

3º) La Doxiciclina demostró mayor efectividad terapéutica que otros antibióticos, pues de los 109 casos tratados, 43 casos (39.44 por ciento) habían sido tratados con diversas drogas, sin lograrse resultados favorables.

4º) La droga en estudio comprobó su excelente tolerancia, pues en nuestra casuística sólo se presentaron 6 casos (5.5 por ciento) de efectos secundarios, y los mismos fueron de carácter ligero, tales como náuseas, mareos y cefaleas, que cedieron espontáneamente, sin necesidad de discontinuar el medicamento.

5º) Una de las bondades que aporta este nuevo antibiótico es su fácil dosificación, lo cual lo hace muy cómodo para la terapia en grupo de esta afección.

REACTIVIDAD CRUZADA DE LA LEPROMINA CON OTROS ANTIGENOS MICOBACTERIANOS

MAURICIO GOIHMAN-YAHR
SIDNEY RAFFEL
RODOLFO W. FERRARESI

Departamentos de Microbiología Médica y Dermatología
Universidad de Stanford, Palo Alto, California.

La intradermorreacción de Mitsuda es clásicamente positiva en sujetos con lepra tuberculoide y en un porcentaje importante de personas clínicamente normales. En este último grupo, la positividad no puede atribuirse exclusivamente a una infección subclínica con lepra, puesto que aparece también en gentes oriundas y habitantes de zonas libres de la enfermedad^{1 13}. Aunque el BCG produce un viraje de dicha reacción en individuos previamente negativos;^{3 4 7 11} la sensibilización con *M. tuberculosis* no es tampoco suficiente explicación, ya que sujetos con un Mitsuda positivo pueden presentar un Mantoux negativo.

El presente trabajo trata de averiguar si la positividad de la reacción de Mitsuda puede ser inducida por diferentes especies del género *Mycobacterium*. Los experimentos se efectuaron en cobayos.

Los resultados obtenidos arrojan también alguna luz en el papel del componente bacilar en la sensibilidad a la lepromina.

MATERIALES Y METODOS

Lepromina: Se usó una suspensión bacilar purificada obtenida mediante digestión enzimática de un triturado de lepromas libres de epidermis. Se empleó una concentración de 142 millones de bacilos por cc y un volumen de 0.1 cc para la inyección intradérmica. Esta suspensión fue probada previamente en pacientes con LL y LT, en contactos de casos de LL y en personas vacunadas con BCG y se obtuvieron resultados plenamente comparables a los encontrados con la lepromina integral de uso común. El empleo de la preparación purificada se hizo

necesario para evitar reacciones inflamatorias espurias en el animal. Se utilizó también una suspensión de dermis humana normal preparada de modo idéntico a la lepromina.

Animales: cobayos albinos de un peso inicial de 350 a 550 gramos.

Microorganismos: BCG; *M. kansasii*; *M. phlei*; *M. butyrium*; el bacilo de Battey y *Candida albicans*.

Las micobacterias fueron cultivadas en medio sólido a 37°C; separadas del agar; lavadas; esterilizadas por el calor y ajustadas en una suspensión con un peso húmedo por unidad de volumen conocido.

C. albicans fue cultivada en Sabouraud líquido a temperatura ambiente; la fase levaduriforme resultante fue procesada del mismo modo que las micobacterias y en todos los casos se efectuaron los controles microbiológicos de rigor.

Los animales fueron sensibilizados mediante la inyección subcutánea en las patas y la nuca de una dosis total de 4 ó 5 miligramos de los microorganismos respectivos emulsificados en coadyuvante incompleto de Freud. Los grupos de control estuvieron constituidos por animales sensibilizados con *Candida*, inyectados con coadyuvante solo o dejados sin tratamiento previo.

Se llevaron a cabo dos experimentos. En ambos, cinco semanas después de la dosis sensibilizante se inyectaron intradérmicamente 0.1 cc, respectivamente, de lepromina, lepromina 1; 10, suspensión de dermis, suspensión de dermis 1/10 y, en el primer experimento, tuberculina bruta.

Las lecturas se hicieron a las 4 horas y 1, 2, 5, 10, 16 y 21 días después de la inyección, los resultados se expresaron en milímetros de diámetro de induración. Después de la última lectura, se biopsiaron los sitios inyectados y los especímenes fueron coloreados por los métodos de hematoxilina-eosina, Giemsa, verde de metilopironina y Ziehl-Neelsen.

RESULTADOS

Todos los grupos sensibilizados con micobacterias presentan una respuesta inflamatoria a la lepromina mayor que el grupo de control. Lo mismo sucede con los resultados "corregidos", obtenidos al sustraer los diámetros de las induraciones causadas por la suspensión dérmica de los diámetros de las induraciones producidas por la lepromina. Es fácil ver en estos resultados, originados en el primer experimento, que los valores encontrados son específicos y no se deben a un aumento general de la capacidad de respuesta ante los estímulos inflamatorios.

El segundo experimento revela resultados cualitativamente idénticos; en esta oportunidad, se efectuaron controles adicionales y se hizo una selección de micobacterias.

Los niveles de induración, obtenidos en animales sensibilizados por estas últimas, fueron aquí más elevados que en el experimento anterior, lo cual se debió al mejor estado general de los animales.

El estudio histopatológico revela un infiltrado inflamatorio granulomatoso resultante en los sitios inyectados con lepromina, en animales sensibilizados con micobacterias. En cambio, en los lugares receptores de suspensión dérmica en estos animales y de la misma y de lepromina en animales de control, se vio sólo un infiltrado inflamatorio banal, predominantemente perivascular.

COMENTARIOS

En el cobayo existe amplia reactividad cruzada entre el componente bacilar de la lepromina y otras micobacterias, representativas de tipos diversos dentro del género *Mycobacterium*; tanto potencialmente patógenas como saprófitas.

Tal reactividad se demuestra en este caso como una inflamación granulomatosa en todo análoga al Mitsuda positivo humano y que recuerda la formación acelerada de tubérculo.

Larson y cols. y Ribi y cols.^{8 9 10 16} demostraron que las paredes celulares de las micobacterias inducen hipersensibilidad hacia ellas mismas y hacia las de muchas otras micobacterias, observándose en estos casos una respuesta granulomatosa. En cambio, la hipersensibilidad hacia el protoplasma micobacteriano es de tipo similar a la tuberculínica y tiene un espectro más restringido.

Se sabe, además, que infecciones con *M. kansasii* y otras micobacterias^{2 6 14} pueden pasar desapercibidas si se emplea la tuberculina usual como medio diagnóstico, pero no si se usa un PPD obtenido a partir de cultivos de la micobacteria en referencia. Tales micobacterias, en especial *M. kansasii*¹⁵ pueden conferir resistencia a la tuberculosis y dicha resistencia, al menos experimentalmente, tiene un límite, de modo que animales protegidos con *M. kansasii*, por ejemplo, ganan muy poco por la vacunación adicional con BCG.

Como la lepromina contiene cuerpos bacilares completos, puede haber una respuesta granulomatosa en casos de sensibilización por una amplia gama de micobacterias, y es muy posible que un individuo con una intradermorreacción negativa ante la tuberculina usual, pueda haber

sido sensibilizado por otras micobacterias, distintas del *M. tuberculosis*, y tener así un Mitsuda positivo.

La existencia de tal sensibilización pudiera ser probada si se efectuaran estudios de ecología micobacteriana y se emplearan tuberculinas específicas para cada caso.

El hecho de que una micobacteria dada pueda causar una hipersensibilización, demostrable asimismo por un Mitsuda positivo, no indica necesariamente que dicha micobacteria sea capaz de inducir resistencia a la lepra; pero no es imposible que esto suceda, por lo menos en parte de los casos.

Por lo tanto, la flora micobacteriana pudiera explicar en parte las diferencias geográficas en incidencia y formas clínicas de lepra, así como en el valor dado a la vacunación con BCG.

Sugerimos que los estudios de campo, donde se emplee tuberculina en conexión con lepra, sean precedidos por estudios de ecología micobacterianas y uso de las tuberculinas apropiadas.

BIBLIOGRAFIA

1. Azulay, R., Convit, J.: "The Mitsuda test in non leprosy persons in a non endemic country". *Internat. J. Leprosy* 15 (1947) 264-266.
2. Carpenter, R. L., Patnode, R. A., Goldsmith, J. B.: "Comparative studies of skin test reactions to various mycobacterial antigens in Choctaw County, Oklahoma". *Am Rev. Respirat. Diseases* 95 (1967) 6-11.
3. Chambon, L., Destombes, C., Nette, R.: "Etude de l'allergie a la lépromine chez des lépreux vaccinés par B. C. G.". *Bull. Soc. Pathol. Exotique* 50 (1957) 631-633.
4. Convit, J.: "An investigation of leprosy in the German ethnic group of Colonia Tovar in Venezuela". IV, *Internat. J. Leprosy* 24 (1956) 38-44.
5. Hanks, J. H., Chatterjee, B. R., Lechat, M. F.: "A guide to counting of mycobacteria in clinical and experimental material". *Internat. J. Leprosy* 32 (1964) 156-167

6. Klare, K. C., Abeels, H., Aronsohn, M. H., Chaves, A. D., Glass, R., Robins, A. B.: "The prevalence of atypical mycobacterial tuberculin sensitivity in a selected population in New York City". *Am. Rev. Respirat. Diseases* 95 (1967) 103-106.
7. Kooij, R., Rutgers, H. W. F.: "Leprosy and Tuberculosis". *Internat. J. Leprosy* 26 (1958) 24-40.
8. Larson, C. L., Ribi, E., Wicht, W. C., List, R.: "Skin reactions produced in rabbits by cell walls and protoplasm of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium butyricum*". *Am. Rev. Respirat. Diseases* 83 (1961) 184-193.
9. Larson, C. L., Bell, J. F., List, R. H., Ribi, E., Wicht, W. C.: "Symposium on relations of structure of microorganisms to their immunobiological properties. II. Hist. React. properties of cell walls and protoplasm of mycobacteria". *Bact. Rev.* 27 (1963) 341-351.
10. Larson, C. L., Ribi, E.: "Mycobacterial cellular antigen fractions". *Am. Rev. Respirat. Diseases* 92 (6, part 2) (1965) 49-53.
11. Leiker, D. L.: "Studies on the lepromin test III. Influence of tuberculosis contact and other factors on the size of the lepromin reaction". *Internat. J. Leprosy* 29 (1961) 488-495.
12. Martins, A. B.: Comunicación personal.
13. Montestruc, E., Despierres, G.: "La réaction de Mitsuda et le Role du BCG dans la positivité de cette réaction en milieu indemne de lépre". *Bull. Soc. Pathol. Exotique* 53 (1960) 630-634.
14. Palmer, C. E., Edwards, L. B.: "Sensitivity to Mycobacterial PPD antigens with some laboratory evidence of its significance". *Tuberkuloza* 18 (1966) 193-200.
15. Palmer, C. E., Long, M. W.: "Effects of infections with atypical mycobacteria on BCG vaccination and tuberculosis". *Am. Rev. Respirat. Diseases* 94 (1966) 553-568.
16. Ribi, E., Larson, C. L., List, R., Wicht, W.: "Immunological significance of the cell wall of mycobacteria". *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 98 (1958) 263-265.

**ESTUDIO HISTOLOGICO DE LA REACCION DE
MITSUDA EN PACIENTE DE LEPROA LEPROMATOSA Y
SU VALOR PRONOSTICO EN LOS CASOS
BACTERIOLOGICAMENTE NEGATIVOS**

Dr. OSCAR REYES

INTRODUCCION

La reacción de Mitsuda constituye, hasta ahora, el único procedimiento práctico para conocer acerca del pronóstico de la enfermedad de Hansen.



Dr. Oscar Reyes

Los pacientes de lepra lepromatosa presentan siempre reacciones negativas y los pacientes de lepra tuberculoide reacciones positivas. Los enfermos de lepra dimorfa y de lepra indeterminada presentan reacciones de intensidad variable, pero frecuentemente de débil positividad.

Las respuestas positivas son siempre constantes y así se mantienen de por vida en la gran mayoría de los casos, siendo excepcional, por no decir imposible, que una reacción de Mitsuda francamente positiva se transforme en una reacción de Mitsuda francamente negativa.

Las respuestas negativas o positivas débiles no infrecuentemente se modifican y se hacen positivas, positividad de variable intensidad. Si tomamos en cuenta las diversas formas clínicas de la enfermedad de Hansen, podemos considerar que la posibilidad de transformación de una reacción de Mitsuda de negativa en positiva va decreciendo en el orden siguiente:

Lepra tuberculoide de baja resistencia. Lepra indeterminada.
Lepra dimorfa.
Lepra lepromatosa.

Indudablemente que las formas clínicas de la lepra lepromatosa pueden ofrecer cierta variabilidad inmunológica si tomamos en cuenta que pacientes sometidos a un mismo tipo de tratamiento, en una misma región, con un mismo clima y una misma alimentación, etc., reaccionan variablemente al tratamiento, mejorando unos primero y manteniendo un curso evolutivo favorable, en contraste a otros que responden pobremente y requieren más tiempo para mejorar.

En los enfermos de lepra lepromatosa es, aparentemente después de muchos años de tratamiento, cuando hay posibilidad de una transformación de la reacción de Mitsuda de negativa en positiva; este hecho necesita comprobación histológica. Este cambio de reactividad ha sido tomado en cuenta para conceder el alta condicional a los pacientes de lepra lepromatosa (suspensión del tratamiento específico y control clínico anual), y posiblemente está relacionado con el prolongado tratamiento específico, la repetición de la leprominorreacción, la infección tuberculosa, la becegeización, infección por otras micobacteriáceas, factores nutricionales, endocrinos, etc.

Los cambios histológicos observados en los casos positivos son variables y es uno de los objetos de este trabajo resaltar algunos detalles encontrados en el material examinado, así como también comentar su valor pronóstico en los pacientes de lepra lepromatosa bacteriológicamente negativos y en condiciones de alta.

REVISION BIBLIOGRAFICA

Masa Igarashi y Fumio Hayashi¹ refieren que casos lepromatosos con reacción de Mitsuda negativa más tarde muestran completa absor-

ción de sus lesiones y luego el test se transforma en positivo. Este cambio indica buen pronóstico y en Japón es usado para decidir el retorno de los pacientes a sus hogares. Concluyen en que casos con Mitsuda negativo que se transforma en positivo son de buen pronóstico y los pacientes no tienen recaída. De 35 pacientes lepromatosos mejorados dieron reacción positiva 28 casos (80 por ciento), sin recaída. La mayoría de los casos lepromatosos con lesiones regresivas, que dieron Mitsuda negativo, tenían recaída. Tales casos son, regularmente, de pobre pronóstico.

A. Rotberg² señala seis casos nodulares (LL) con Mitsuda de ++ (5 a 10 mm) a lo cual no concede ningún valor práctico para pronóstico.

J. O. Nolasco (3-4) refiere que de cuarenta y ocho casos lepromatosos en variado estado de reacción, cuatro presentaron Mitsuda positivo, uno con 3+ y tres con 2+; dieciseis casos con 1+ con 3+ y tres con 2+; dieciseis casos con 1+, con estructura tuberculoide histológicamente.

A pesar de que el test fue hecho en piel aparentemente normal, focos lepróticos fueron demostrados histológicamente en treinta y tres de los treinta y siete casos lepromatosos estudiados.

G. Basombrio, J. C. Gatti, J. E. Cardama y C. V. Colombo' estudiaron cinco casos lepromatosos, tres de ellos con medicación regular, junto con la mejoría clínica hubo variación de la lepromina en esta forma: de negativa a dudosa, dos casos; de negativa a positiva franca (1+), un caso; en los otros dos la leprominoreacción mostró viraje mientras el tratamiento fue regular, pero por abandono de tratamiento y empeoramiento clínico la lepromina se negativizó.

Salomón Schujman⁶ logra la inducción de la Mitsuda con BCG o con Stefansky en el 50 por ciento de los casos lepromatosos; la positivización tardía es un nódulo discreto de estructura tuberculoide. La Mitsuda inducida no tiene valor protector, porque es de duración transitoria y no es favorable en la evolución de los casos activos y se ha observado recaída en los casos clínica y bacteriológicamente negativizados.

Saburo Sato y Minoru Fukuda⁷ encuentran positividad de Mitsuda (3mm o más) en el 80 por ciento y más de casos lepromatosos. La principal causa del fenómeno parece ser el acentuado aumento de la facultad de resistencia a la infección leprosa proveniente de la quimioterapia moderna.

N. Mukerjee y S. Kundu⁸ estudiaron diecisiete casos L. L. residuales sometidos a sulfonoterapia manteniendo la atenuación de las lesiones durante 2 a 4 años; tres dieron una leprominoreacción tardía positiva, dos de ellas clínicamente y las tres histológicamente. Un caso había sido limitrofe. Deducen que los casos lepromatosos atenuados en su gran mayoría permanecen negativos a la lepromina, aunque pueda encontrarse de vez en cuando, en algunos de esos casos, una reacción positiva clínica e histológica.

Dharmendra, Hayashi, Lagrosa, Rodríguez, Lima, Igarashi y otros investigadores⁹ que han estudiado los resultados de la leprominoreacción en pacientes con lepra lepromatosa han llegado a las conclusiones siguientes: los casos lepromatosos activos con lepromina positiva son más proclives a mejorar; los casos lepromatosos que clínicamente regresan presentan tendencia a positivizar la leprominoreacción y los casos lepromatosos mejorados y leprominopositivos tienen menos tendencia a recaer que los casos leprominonegativos.

MATERIAL Y METODOS

Para este estudio se aprovechó el material biopsico de reacciones positivas, de 3 mm o más, que se encontraron en 98 pacientes de lepra lepromatosa (de entre más de ciento setenta y seis a los cuales se aplicó la leprominoreacción) bacteriológicamente negativos, que habían recibido tratamiento específico, la gran mayoría sulfonas, entre 10 y 20 años, con el propósito de conceder el alta si la reacción resultaba histológicamente positiva.

El antígeno utilizado fue la lepromina integral, conteniendo aproximadamente 160 millones de bacilos por cc.

La reacción fue leída entre 4 y 8 semanas después de la aplicación del antígeno, verificada en la cara anterior del tercio superior del antebrazo derecho; las biopsias fueron tomadas con "punch", fijadas en formol y luego sometidas a coloraciones de hematoxilina-eosina y Faraco para estudio de la reacción tisular y para examen bacteriológico.

Toda reacción tisular de tipo granuloma tuberculoide, con nódulos epitelioides y/o tuberculoides, bien organizados, con o sin necrosis, fue interpretada como positiva franca.

Las reacciones en las cuales había un granuloma tuberculoide no bien formado, en organización, fueron interpretadas como positivas moderadas.

Las reacciones con escasos elementos de granuloma tuberculoide fueron interpretadas como positivas discretas, y toda reacción con vestigios de estructura tuberculoide, o sin ellos, fue interpretada como negativa.

Las reacciones en las cuales se encontró un granuloma histiocitario con vacuolización celular y presencia de numerosos bacilos de la lepra fueron interpretadas como reacción isopática.

Algunos detalles de morfología histológica encontrados en el material de estudio serán señalados más adelante.

Un grupo de los pacientes estudiados pudo ser observado en su evolución posterior a la investigación con el propósito de controlar los síntomas clínicos, el estado bacteriológico, etc.

RESULTADOS

Clínicamente negativas78 (y algo más).

Clínicamente positivas (3 mm o más)98.

De las 98 reacciones estudiadas encontramos la siguiente distribución numérica en relación con la estimación señalada sobre la reacción tisular:

Reacciones positivas francas	34 = 34,6%
Reacciones positivas moderadas	27 = 27,5%
Reacciones positivas discretas	15 = 15,3%
Reacciones negativas	19 = 19,3%
Reacciones isopáticas	3 = 3 %

En la lectura de estas biopsias también encontramos una reacción similar a un nódulo cutáneo que consideramos, histológicamente, como un fibrohistiocitoma, es posible que el traumatismo provocado por la introducción de la lepromina integral haya ocasionado este fenómeno de reactividad tisular.

También se observó una reacción positiva con arquitectura de nódulo reumático, lesión que hemos visto aparecer en pocos casos de lepra lepromatosa y cuyo hallazgo ha sido ocasional.

Asimismo se diagnosticó un caso como reacción gigantocitaria, tipo de reacción no muy infrecuente en casos lepromatosos residuales.

En los cortes con bacilos, éstos siempre estaban deteriorados,

es decir, ausencia de formas sólidas en todos los casos; en algunos de ellos los gérmenes tenían una localización de preferencia perianexial e intraneural.

Exponemos, numéricamente, los resultados de la investigación bacteriológica en los cortes en relación al resultado de la reacción tisular.

	Resultado de la reacción tisular	Resultado de la investigación bacteriológica	
		Positiva	Negativa
Positiva franca:	34 casos	11	23
Positiva moderada:	27 casos	9	18
Positiva discreta:	15 casos	3	12
Negativa:	19 casos	1	18
Reacción isopática:	3 casos	3	0

De los 98 casos estudiados, 8 han regresado a control con lesiones de recaída y bacteriología positiva en el curso de dos meses y dos años después de haber suspendido el tratamiento. Revisadas las historias de estos pacientes encontramos que todos habían tenido reacción de Mitsuda histológicamente positiva franca representando el 23,5 por ciento (8 de 34) del total de pacientes con leprominoreacción positiva franca.

COMENTARIOS

De los resultados obtenidos de este estudio, puede deducirse que la reacción de Mitsuda en enfermos de lepra lepromatosa de muchos años de tratamiento, se transforma de negativa en positiva con moderada frecuencia; 76 casos, de más de 176 inoculados con lepromina integral, presentaron leprominoreacción de positividad histológica variable; algo menos de la mitad de esos casos tuvieron una reacción francamente positiva, de acuerdo a la interpretación de los resultados, convencionalmente propuesta.

Está todavía por conocerse el mecanismo íntimo de esta transformación, señalándose el tratamiento específico, la repetición de las pruebas de lepromina, la becegeización, la acción de otras vacunas, etc., como factores que intervienen en ella.

Las reacciones isopáticas fueron infrecuentes en los casos estudiados, pero es necesario tenerlas en cuenta para no atribuir reacciones de Mitsuda positivas falsas a pacientes de lepra lepromatosa.

La positividad bacteriológica del material no parece tener ningún valor, pues es indiferentemente positiva o negativa, en reacciones histológicamente positivas o negativas, pero en este material, de los 19 casos histológicamente negativos, solamente un caso fue bacteriológicamente positivo y 18 casos fueron negativos; pensamos que la acción lítica del granuloma formado en las reacciones positivas no sea un componente importante para clasificar a la reacción como positiva. El hecho de que la gran mayoría de reacciones negativas son bacteriológicamente negativas hacen sospechar que la presencia del bacilo, por un determinado tiempo, es necesaria para formarse una reacción positiva.

Desde el punto de vista pronóstico, este estudio demuestra que la positividad de la reacción de Mitsuda en pacientes L L tratados por muchos años, positividad histológicamente confirmada, no representa ninguna seguridad para la curación o estabilidad de la mejoría de un determinado caso. El hecho de que los pacientes que hayan regresado con recaída hayan sido justamente algunos de los que habían presentado leprominoreacción positiva es una buena base para justificar el comentario anterior.

BIBLIOGRAFIA

1. Masa Igarashi and Fumio Hayashi: "Observation of patients with atypical Mitsuda reaction, after an interval of ten years". *International Journal of Leprosy*, Vol. 8, N° 4, Oct.-December, 1940; pág. 457.
2. A. Rotberg: "The Reading of the lepromin test". *International Journal of Leprosy*, Vol. 7, N° 2, April-June, 1939; pág. 161.
3. J. O. Nolasco: "The lepromin test in lepra reaction". *International Journal of Leprosy*; Vol. 8, N° 2; April-June, 1940; pág. 151.
4. J. O. Nolasco: "The lepromin test in lepra reaction". *International Journal of Leprosy*, Vol. 8, N° 3; July-Sept., 1940; pág. 285.

5. Doctores G. Basombrio, J. C. Gatti, J. E. Cardama y C. V. Co lombo: Modificaciones de la leprominoreacción. *International Journal of Leprosy*; Vol. 18, N° 4; October-December, 1950; pág 481.
6. Salomon Schujman, M. D.: "Subsequent evolution of the induced Mitsuda Reaction in Clinically and bacteriologically negative lepromatous cases". *International Journal of Leprosy*; Vol. 24, N° 1; January-March, 1956; pág. 51.
7. Saburo Sato and Minoru Fukuda: "Marked increase in Mitsuda positivity in lepromatous cases with reference to clinical features". *International Journal of Leprosy*; Vol. 26, N° 3; July-September, 1958; pág. 205.
8. Mukerjes, N. and Kundu, S.: "The late Lepromin Reaction in subsided. Lepromatous Cases". *International Journal of Leprosy*, Vol. 29, N° 1; January-March, 1961; pág. 14.
9. Dharmendra, M. B. B. S. D. B. "The lepromin test. A Review". *Leprosy Review*, Vol. XVIII, N° 4; October, 1947.

SEGUNDA SESION DE TRABAJOS LIBRES

DISCUSION

Dr. Borda: Quería expresar que me ha sido particularmente honoroso, presidir de manera honoraria esta sesión científica, que ha sido un modelo, tanto en lo que se refiere a los temas de investigación, como a los temas clínicos. Quería agregar algún comentario sobre ese trabajo que presentaron el doctor Gómez Carrasquero y la doctora Herrera. He seguido con particular interés sus comentarios sobre la acción de la vitamina B6, porque este problema tan complejo que es la solución terapéutica de las dermatitis polimorfas solares, recibió una cierta solución, que se vio parcelar, cuando se hizo el aporte del conocimiento de la acción protectora contra la luz de la vitamina P. P. También este otro aporte, en el sentido de la utilidad terapéutica de la vitamina B6 y sumado todavía a esos nuevos conceptos del papel que desempeña el icido urocánico como protector, y tomando en cuenta que ese ácido urocánico no es nada más que un derivado de la histidina, vale. decir, que un aminoácido, obligan a plantear en el terreno nutricional, aparte de lo metabólico, desde ya, alteraciones sobre todo de los pigmentos tetrapirrólicos y de las porfirinas, en particular, obligan, decía, a plantear en el terreno nutricional buena parte de la solución terapéutica de estas dermatitis polimorfas solares.

Dr. Albornoz: Un rápido comentario acerca del último trabajo leído por el doctor Oscar Reyes. Hay una gran preocupación en el país, no solamente de la escuela de leprología, sino en la escuela de tuberculosis, que cuenta con un equipo excelente de bacteriólogos, de trabajadores en este campo difícil de la biología. Se acaba de ampliar el margen de negatividad tuberculínica a ser utilizado por el tisiólogo. Hasta 10 mm se considera negativo; de 10 mm hacia arriba se considera positivo; es decir, que el valor de estas micobacterias en el medio ambiente, en los distintos lugares del país, es tan variable que está siendo considerada a fin de ser tomada en cuenta, no solamente en los trabajos de la pura leprología, sino también en los trabajos relativos a tuberculosis.

Dra. Mejía: El doctor Reyes que por favor explique. El dijo en relación a la positividad del Mitsuda que algunos pacientes que habían sido dados de alta, habían recaído; y que los que consideraban nega-

tivos, entendí yo, a la lepromina, no habían concurrido con recaídas. Quisiera que el doctor Reyes aclarara algo.

Dr. Reyes: Creo que la pregunta de la doctora Mejía me da oportunidad para corregir un posible lapsus que tuve por el apuro, porque el trabajo es un poco grande; pero en verdad, los casos que resultan con Mitsuda histológicamente negativo, no le damos de alta, de manera que allí estuvo la confusión.

Dr. Estrada: En relación con el trabajo presentado sobre las variaciones del potencial de oxígeno por el doctor Omar Miret, es un trabajo muy interesante, por cuanto revela que la disponibilidad del oxígeno a nivel de la piel, está en relación no con la pureza de la cantidad de oxígeno aplicado. Yo quiero preguntar al doctor Miret, en vista de que aquí se han hecho ensayos, por parte del doctor Miguel Tálamo, en ulceraciones de miembros inferiores por estasis, de aplicación de oxígeno local, mediante una bolsa de polietileno, ensayo iniciado acá por el doctor Tálamo y que luego ha sido también demostrado su utilidad en el exterior, quizás utilizando diferentes presiones. ¿Qué posibilidad abren estas investigaciones, de la disponibilidad de oxígeno, en relación con su aplicación al tratamiento de las úlceras de las piernas?

Dr. O. Miret: Bueno yo creo que si desde un punto de vista experimental, la inhalación de oxígeno puro eleva el potencial de oxígeno, como vimos hace poco en uno de los "slides", y que cuando el animal respiraba una atmósfera de carbógeno al 5 por ciento, el potencial era casi el doble, entonces parece que es evidente, aunque no tenemos experiencia al respecto, que sometiendo el animal a una atmósfera de oxígeno hiperbárico, que no es más que oxígeno a 5 atmósferas de presión, y tomando el potencial con el mismo aparato con el cual hicimos el trabajo y luego sometiendo al animal a una atmósfera hiperbárica de carbógeno, si lo que nosotros conseguimos es un hecho, como está demostrado ya, es muy posible, es casi seguro, que el carbógeno hiperbárico sea mejor para el tratamiento de las úlceras, en este caso que plantea el doctor Estrada, que el mismo oxígeno puro. Ya, en Montevideo, el profesor Mazzella, quien ha trabajado mucho sobre oxígeno polarográfico en el miocardio ventricular, provocando anoxia mediante la ligadura de las coronarias, ha llegado a demostrar que la anoxia miocárdica mejora con el carbógeno. Esto permite la sugerencia que hace Mazzella a los cardiólogos de su país, que utilicen el carbógeno para tratamiento de los infartos del miocardio.

Entonces la pregunta del doctor Estrada es muy interesante, puesto que el oxígeno hiperbárico en piel es una cosa bastante reciente y lo que no está publicado es el uso del carbógeno hiperbárico. Yo creo entonces, en conclusión, que el carbógeno hiperbárico debe ser mejor terapéuticamente que el oxígeno hiperbárico. Aún más, me atrevo a decir, aunque esto tampoco está demostrado, que posiblemente el mismo animal colocado bajo una atmósfera de oxígeno hiperbárico o de carbógeno hiperbárico y que esté sometido a una radiación con un material, supongamos como Krypton marcado, podría quizá, la misma atmósfera hiperbárica mejorar la penetración de las radiaciones ionizantes. Eso es todo, doctor Estrada.

Dr. Soto: Quiero hacer una pregunta al doctor Gómez Carrasquero. Al finalizar el trabajo del tratamiento de la blenorragia con la Deoxiclina, él afirma que es posible la utilidad de esta droga durante los próximos cinco años. Quisiera preguntarle qué significado le da a esas últimas palabras.

Dr. Gómez: El significado es muy claro, como se ve a través de la evolución terapéutica de la uretritis aguda o blenorragia o uretritis aguda gonocócica con todos los antibióticos. A medida que sale un antibiótico o aparece farmacológicamente un antibiótico, se usa en diferentes afecciones y los primeros resultados son excelentes. Casi toda la bibliografía en relación a esto, al inicio de los antibióticos, es excelente. Ha sucedido con la penicilina, cloramfenicol, la tetraciclina, y en general. Por eso dije yo que probablemente durante estos cinco años venideros, si se usa, es decir, si se populariza esta forma, donde el paciente solamente tiene que tomar cuatro cápsulas para curar su uretritis, es muy probable que la resistencia y la tolerancia a la droga se adquieran, elevándose las dosis y al mismo tiempo haciéndola ineficaz.