

ANTIOQUIA MEDICA

VOL. 16 N° 4 - 1966 ANTIOQUIA MEDICA-MEDELLIN, COLOMBIA

Organo de la Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia y de la Academia de Medicina de Medellín. — Continuación del "Boletín Clínico" y de "Anales de la Academia de Medicina". — Tarifa Postal reducida. Lic. N° 1.896 del Ministerio de Comunicaciones.

Dr. Benjamín Mejía Cálad
Decano de la Facultad

Carlos Sanín Aguirre
Presidente de la Academia

EDITOR:

Dr. Alberto Robledo Clavijo

CONSEJO DE REDACCION:

Dr. Hernán Vélez A.	Dr. César Bravo R.
Dr. Iván Jiménez	Dr. David Botero R.
Dr. Alfredo Correa Henao	Dr. Marcos Barrientos M.
Dr. Oscar Duque H.	Srta. Melva Aristizábal

ASESORES ECONOMICOS

William Rojas M. Fernando Londoño P.

Srta. Margarita Hernández B.
Administradora

CONTENIDO:

EDITORIAL

Una conjura contra los médicos. **Dr. Alberto Robledo Clavijo**.... 255

MEMORIAS CIENTIFICAS ORIGINALES

Electroforesis en gel de agar para la demostración de cuatro fracciones de hemoglobina en la sangre de los niños recién nacidos. **Dr. Alberto Echavarría. Srta. Consuelo Molina. Dr. Norman Harry** 257
Relaciones entre la aterosclerosis y la hipertensión.
Dra. Nubia Muñoz, Pelayo Correa y Egon Lechtenberger..... 277

PRESENTACION DE UN CASO

Acido Etacrínico en pacientes edematosos.
Dres. Leonel Ospina, Salomón Bermúdez y Hernán Torres I...... 289

REVISION DE TEMAS

Microscopia fluorescente. Métodos y aplicaciones en medicina.
Dr. David Botero M. 303

ENCUESTAS

Encuesta sobre la hipospalasmosis y la paracoccidiomicosis en un Hospital de tuberculosos. **Dres. Alvaro Uribe Peláez, Luis Carlos Montoya R. y Dra. Angela Restrepo M.** 323

NOTICIAS 339

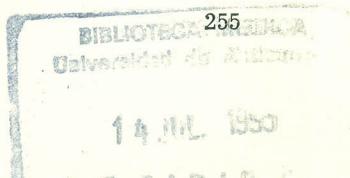
UNA CONJURA CONTRA LOS MEDICOS

El panorama que se presenta a los médicos colombianos en el próximo futuro es realmente incierto pues parece existir una verdadera conjura de los administradores de la cosa pública, para colocar a la profesión en una situación de inferioridad al pretender subyugarla y ponerla a su servicio; ésto parece nacer de que se nos juzga incapaces de orientar y dirigir los servicios de salud y por eso quieren sustraernos el control de sus organismos.

Con el ilógico pretexto de considerar el bienestar social como el todo, tergiversando así el verdadero concepto de salud, ya definido por las entidades internacionales como el completo bienestar físico, mental y social; se quiere entonces faltando a las leyes de la lógica, considerar como la definición a sólo una de sus partes.

Esta conjura se extiende a todos los niveles, desde el nacional pues ya la prensa ha informado que uno de los programas del Presidente electo, consiste en sustituir el Ministerio de Salud por uno de bienestar social que abarcará, no sólo los servicios médicos sino los de vivienda y acción comunal, bajando así de nivel y subestimando por lo tanto los organismos que deben velar por la salud de los colombianos.

A nivel departamental, pues la interpretación acomodaticia que se ha dado a la integración de los servicios de salud, en algunos Departamentos, vieja ambición del cuerpo médico, hace que su dirección se entregue a entidades como las Beneficencias, cuya sola obligación es proporcionar los medios para la asistencia pública; con el pretexto de defenderlas de una pretendida voracidad de los organismos centrales del estado.



A nivel municipal con la reforma administrativa próxima a adoptarse en el Municipio de Medellín, sometida ya a la consideración de los demás Municipios Colombianos como ejemplar y que conlleva una colocación de los servicios de salud en un nivel inferior.

Todas estas estructuras tienden a marginar a los médicos de la administración pública y a convertirnos en sólo un instrumento de los organismos del estado, sometidos a recibir órdenes y a ser orientados por personas ajenas a la profesión.

No ha sido en vano la conducta adoptada por la inmensa mayoría de los médicos colombianos que en los últimos años han mirado con malos ojos a los colegas que intervienen en la administración del estado y permitiendo que los más incapacitados desempeñen los cargos que por derecho nos pertenecen. Esa conducta negativa ha dado entonces sus frutos. En un plazo verdaderamente corto la completa socialización de la medicina ejecutada por personas extrañas a la profesión, se cumplirá en nuestra patria, en medio del silencio culpable del cuerpo médico.

Desde estas columnas de ANTIOQUIA MEDICA que llega a la mayoría de los médicos colombianos, queremos llamar la atención de todos los integrantes de las profesiones médicas y paramédicas e invitarlos para que nos levantemos y al unísono hagamos saber a los dirigentes del estado que no permitiremos ser suplantados en nuestros derechos, que si bien no nos sustraemos al destino social de la profesión, no podemos permitir que la socialización se haga a nuestras espaldas y que reclamamos nuestra representación en el manejo de la República y la dirección de los organismos encargados de velar por la salud de nuestros conciudadanos.

La experiencia lamentable vivida en otros países en donde ello ha sucedido y en donde el médico ha descendido de categoría y se ha convertido en un mero instrumento de estado, nos muestra el camino.

Si no queremos tener la misma suerte de los médicos de España y Chile para no mencionar sino esos dos ejemplos, no tenemos más que callarnos y someternos, pero si anhelamos la vivencia plena de la personalidad del médico, opongámonos de todas maneras a la adopción de tales reformas.

A. R. C.

**ELECTROFORESIS EN GEL DE AGAR PARA LA DEMOSTRACION DE CUATRO
FRACCIONES DE HEMOGLOBINA EN LA SANGRE DE LOS NIÑOS
RECIENTE NACIDOS**

ALBERTO ECHAVARRIA, M. D. *
CONSUELO MOLINA, M. T. **
NORMAN HARRY, M. D. ***

La hemoglobina fetal fue descubierta en 1886, cuando Von Korber demostró que la sangre placentaria se comporta de manera diferente a la del adulto cuando se trata con alcalis fuertes. Se ha establecido que en individuos normales después del primer año de vida, la concentración de hemoglobina fetal se encuentra por debajo de 20%. En el cordón umbilical la proporción de hemoglobina fetal fluctúa entre 45 y 90% del total (1). Entre nosotros la cifra promedio fue de 52% en un estudio verificado hace varios años (2).

El método más usado para medir la concentración de esa hemoglobina es el de Singer y col., basado en la desnaturalización al alcali (3), que es simple en su técnica aunque los resultados son poco exactos cuando las cifras son muy bajas o muy altas (4), Robinson y col., han logrado separar el componente fetal de la hemoglobina del adulto mediante la electroforesis en agar con buffer de citratos a pH 6.2. (5). Los mismos resultados fueron obtenidos por Marden y Conley (6).

Aunque la hemoglobina fetal se ha considerado generalmente un compuesto homogéneo, algunas publicaciones tienden a probar que existen diferencias físico-químicas que suponen la presencia de más de un tipo de pigmento resistente al álcali. Allen y col. (7), han obser-

Sección de Hematología.
Sección de Hematología.
Residente en Hematología. Departamento de Pediatría. Univ. de A.

**ELECTROFORESIS EN GEL DE AGAR PARA LA DEMOSTRACION DE CUATRO
FRACCIONES DE HEMOGLOBINA EN LA SANGRE DE LOS NIÑOS
RECIEN NACIDOS**

ALBERTO ECHAVARRIA, M. D. *
CONSUELO MOLINA, M. T. **
NORMAN HARRY, M. D. ***

La hemoglobina fetal fue descubierta en 1886, cuando Von Korber demostró que la sangre placentaria se comporta de manera diferente a la del adulto cuando se trata con alcalis fuertes. Se ha establecido que en individuos normales después del primer año de vida, la concentración de hemoglobina fetal se encuentra por debajo de 2%. En el cordón umbilical la proporción de hemoglobina fetal fluctúa entre 45 y 90% del total (1). Entre nosotros la cifra promedio fue de 52% en un estudio verificado hace varios años (2).

El método más usado para medir la concentración de esa hemoglobina es el de Singer y col., basado en la desnaturalización al alcali (3), que es simple en su técnica aunque los resultados son poco exactos cuando las cifras son muy bajas o muy altas (4). Robinson y col., han logrado separar el componente fetal de la hemoglobina del adulto mediante la electroforesis en agar con buffer de citratos a pH 6.2. (5). Los mismos resultados fueron obtenidos por Marden y Conley (6).

Aunque la hemoglobina fetal se ha considerado generalmente un compuesto homogéneo, algunas publicaciones tienden a probar que existen diferencias físico-químicas que suponen la presencia de más de un tipo de pigmento resistente al álcali. Allen y col. (7), han obser-

Sección de Hematología.
Sección de Hematología.
Residente en Hematología. Departamento de Pediatría. Univ. de A.

vado ciertas diferencias cromatográficas y de cristalización en la hemoglobina de tipo fetal. Herman (8), por medio de la electroforesis en gel de almidón y buffer adicionado con detergentes catiónicos, demostró varias fracciones de hemoglobina fetal en sangre de cordón umbilical y en individuos talasémicos. Por otra parte, en niños recién nacidos, se han descrito algunos componentes menores de hemoglobina distintos al pigmento fetal que representan anormalidades dependientes de las cadenas alfa, entre ellas la llamada hemoglobina de Bart (gama 4) y la hemoglobina H (beta 4).

Recientemente Naiman y Gerald, han encontrado dos componentes "fetales" en todos los cordones umbilicales, en síndromes talasémicos y en individuos que presentan cantidades aumentadas de hemoglobina resistente al álcali, por medio de la electroforesis en agar con buffer de fosfatos a pH 6.2 (9).

El presente artículo se refiere al estudio de tres fracciones de tipo fetal encontradas en la sangre de cordones umbilicales normales, mediante un método nuevo de electroforesis en gel de agar, desarrollado por nosotros.

MATERIAL Y METODOS

Las muestras de sangre del cordón umbilical fueron tomadas en el momento del parto, en el Departamento de Obstetricia, Hospital de San Vicente de Paúl de Medellín y fueron sometidas a electroforesis el mismo día de su obtención. Las sangres de los niños lactantes fueron obtenidas en el Hospital Infantil, de pacientes hospitalizados con enfermedades no hematológicas. La solución de hemoglobina fue preparada por los métodos usuales descritos anteriormente (10). Los hemolizados fueron sometidos a las siguientes pruebas: 1). Desnaturalización al álcali, por el método de Singer y col. (3). Electroforesis en papel a pH 8.6 con buffer barbital según la técnica de Chernoff. 3). Electroforesis de agar citratos según el método de Robinson y col. (2). 4). Prueba de ciclaje con metabisulfito al 2%

Los datos obtenidos por los métodos anteriores fueron comparados con los hallazgos encontrados mediante un nuevo método de electroforesis en gel de agar desarrollado en nuestro laboratorio y cuya técnica es la siguiente:

Preparación de las soluciones buffer: Se utilizan dos soluciones buffer en un sistema discontinuo.

de la cámara con tiras de esparadrapo. Dejar pasar la corriente eléctrica a 165 voltios durante 2 horas. Secar las láminas de agar en la estufa a 40-50 grados. Es aconsejable hacer un corte transversal en el agar a 2 cms. de un extremo para evitar que se abra la incisión central. Colorear las placas con Amido Negro 10 B (1 gramo de colorante, 100 cc. de metanol, 100 cc. de agua destilada y 10 cc. de ácido acético glacial). Decolorar el fondo con ácido acético al 5% sin agitar excesivamente para evitar que se desprenda el agar de las placas. Los diagramas así obtenidos, después de secos, pueden ser medidos cuantitativamente con un densitómetro.

RESULTADOS

Con el método anterior, se produce una separación clara de varias fracciones de hemoglobina en sangre de cordón umbilical. La emigración de las fracciones "fetales" se hace en el sentido del polo negativo como es usual en los métodos de agar a pH ácido, mientras que la hemoglobina A emigra ligeramente hacia el polo positivo. Tres distintos diagramas pueden ponerse en evidencia según la edad de los pacientes.

Cordón umbilical: En todos los casos, la hemoglobina del cordón umbilical se separó en 4 bandas. Una primera banda, situada hacia el polo positivo, corresponde a la hemoglobina A. Las tres bandas restantes emigran hacia el polo negativo y corresponden a fracciones de tipo fetal, como se aprecia en la figura 1. La movilidad de las bandas con movimiento catódico es independiente de la cantidad de cada una de ellas, pero no sucede lo mismo con la hemoglobina A, la cual se desplaza más ampliamente hacia el polo negativo cuando la cantidad de ella es mayor. Este modo de emigración está en concordancia con otros métodos de electroforesis a pH ácido (5-6). Provisionalmente hemos designado las bandas "fetales" con los nombres F-1, F-2 y F-3, por estar situadas cerca a la posición de la hemoglobina F, en métodos similares en agar en medio ácido.

Niños después del nacimiento: En los primeros 15 días de vida, el diagrama electroforesis fue igual al observado en la sangre del cordón umbilical. Después de este período se observó una disminución progresiva de la banda F 3, la cual desapareció en todos los niños mayores de tres meses de edad. La banda F 2, disminuyó progresivamente hasta los 6 meses de edad y desapareció durante el se-

gundo semestre de la vida. La banda F 1, permaneció durante todo el primer año de vida, notándose un aumento progresivo durante el primer semestre. Esta última banda fue la única que se encontró normalmente en niños pre-escolares, escolares y adultos (ver foto 1).

Hemoglobinas anormales: Las hemoglobinas anormales como la S y la C, se separan completamente de la hemoglobina A, hacia el polo positivo. Cuando el contenido de hemoglobina A es muy bajo (menos de 20%), tal como sucede en la talasemia hemoglobina S, la banda de hemoglobina A, se sitúa muy cerca de la S, haciendo difícil la apreciación.

La hemoglobina D, no separa de la hemoglobina A, lo cual permite diferenciarla de la hemoglobina S. (10). En general, las hemoglobinas anormales se comportan de manera semejante a la observada en otros métodos de agar a pH ácido (5-6). Una excepción a lo anterior es el comportamiento de la hemoglobina J, en su variante J. Baltimore, la cual se separa de la hemoglobina A, en el sentido del cátodo (10). Debe anotarse que las hemoglobinas llamadas "rápidas", como la K, N, J, I, H, no separan de la hemoglobina A, por el método de agar citratos (16), ni por el método de agar fosfatos (9).

Patrón electroforético en otras enfermedades: En un paciente con talasemia mayor el diagrama fue semejante al observado en niños recién nacidos (F, 1, F 2, F 3). En individuos con rasgo talasémico, talasemia-Hemoglobina S y talasemia-Hemoglobina C, se observaron siempre 2 bandas, F 1 y F 2. Tres bandas "fetales", fueron observadas en un caso de talasemia-hemoglobina S. La banda F 2, fue más evidente cuando la hemoglobina resistente al álcali estaba aumentada. Dos bandas, F 1 y F 2, fueron encontradas en individuos con persistencia hereditaria de hemoglobina fetal.

En anemia falciforme se encontraron siempre dos bandas (F 1 y F 2) y en algunas ocasiones, especialmente en niños de corta edad se encontró una pequeña cantidad de F 3. En rasgo falciforme se encontraron frecuentemente 2 bandas F 1 y F2, pero en el rasgo A C, solamente una banda F 1, fue observada en los casos estudiados.

Doble banda, F 1 y F 2, fue encontrada en esferocitosis hereditaria, en anemias hemolíticas auto-inmunes en crisis, en hemoglobinuria por sensibilidad a la primaquina, en leucemia aguda y en anemias aplásticas.

En lactantes, con ictericia prolongada después del nacimiento (enfermedad hemolítica por incompatibilidad, sepsis del recién nacido, atrepsia de vías biliares, hepatitis), se observó un retardo en la evolución normal de las tres bandas, encontrándose un patrón electroforético similar al del cordón umbilical, en niños con edades variables entre 1 y 4 meses.

Variaciones en niños menores de 1.000 gramos de peso: Niños prematuros por peso y por edad de gestación se estudiaron para observar el porcentaje de las fracciones fetales en relación con la edad fetal. Los resultados pueden verse en el cuadro siguiente:

Feto Nº 1	Gest.	Peso	F 1	F 2	F 3	A	Desnat. Alcali
1	25 Semanas	900 gmos.	2.3	82.5	5.9	9.4	52.7%
2	24 Semanas	870 gmos.	3.2	85	5.3	6.4	60.50%
3	22 Semanas	500 gmos.	1.7	56	27	5.0	---

Aunque el corto número de casos no permite sacar ninguna conclusión, llama la atención el aumento de la fracción F 3 en el feto más inmaduro en peso y edad.

Efectos producidos por la exanguino-transfusión: Se demostró una disminución progresiva de las bandas F 2 y F 3 en la sangre obtenida del cateter umbilical después de la substitución de 250 cc. y 500 cc. de sangre, en un niño que padecía de incompatibilidad al factor Rh. En un segundo caso semejante, que requirió tres exanguino-transfusiones en días consecutivos mostró también una disminución marcada de las fracciones F 2 y F 3 y después de la tercera exanguino-transfusión, el patrón electroforético era semejante al de un niño de 6 meses de edad. (ver fig. 2). Estos hallazgos demuestran que las fracciones "fetales", no son producidas por un artefacto del método y hacen suponer que son de origen fetal.

Valores normales en el cordón umbilical: Se estudiaron 378 cordones umbilicales, tomados en niños sanos. No hubo selección por peso, edad de embarazo o estado patológico de la madre. Los resultados son los siguientes:

	Hb. A	F 1	F 2	F 3	Desnatur. al álcaliL
Cifra máxima	—	6.3	89	17.5	90
Cifra mínima	--	0.5	36	1.	36
Promedio aritmético:	20.7	3.2	69	6.8	54

Del análisis de las cifras anteriores puede deducirse: a) que la fracción F 2 presenta cifras similares a las de la hemoglobina resistente al álcali. El promedio es un poco mayor en el método electroforético tal como ha sido demostrado con el agar citrato. (11-4). Esta diferencia ha sido atribuída a que la desnaturalización por el método de Singer, elimina en parte la hemoglobina desnaturalizada en las etapas de precipitación y filtración, disminuyendo aproximadamente en 10% la cifra real, cuando la hemoglobina fetal es alta (12). b) que la cifra de la fracción F 1, es siempre baja y que la fracción F 3, varía ampliamente de caso a caso.

Variaciones cuantitativas en el primer año de vida: Se estudiaron en total 132 niños en grupos de 10 a 25 para cada edad grupal. Los resultados están comprendidos en los cuadros Nros. 3 y 4.

La fracción F 1 que era de 3.6% en promedio en sangre de cordón umbilical aumentó progresivamente hasta los seis meses de vida, después de los cuales se estabilizó en cifras aproximadas de 12%.

La fracción F 2, disminuyó rápidamente desde cifras de 69% en el cordón umbilical hasta niveles de 13% en el tercer mes de vida. Esta disminución continuó hasta desaparecer la banda alrededor del año de edad.

CUADRO N° 4

Edad	FRACCIONES "FETALES"			Hemogl. Resistente al álcali	Hemogl. A 2
	F 1	F 2	F 3		
Cordón umbilical	3.2	69.2	6.82	54.4	0
1 mes	3.7	57.7	4.1	46.	0.23
2 meses	5.9	45.6	2.1	26.3	1.17
3 meses	5.7	23.1	0.2	15.6	2.6
4 meses	8.1	13.1	0	7.1	2.75
5 meses	9.6	12.7	0	7.5	2.74
6 meses	11.8	8.05	0	5.3	3.2
7 meses	11.5	1.9	0	3.3	3.3
8 meses	12.7	0.5	0	3.5	3.3
9 meses	12.2	1.8	0	2.9	3.2

Promedio aritmético de las fracciones hemoglobínicas de tipo fetal y hemoglobina A2, durante el primer año de vida en 132 niños estudiados endémic Malaria. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg. 59: 395-414, 1935 diomedialastinal. Adherencias diafragmáticas.

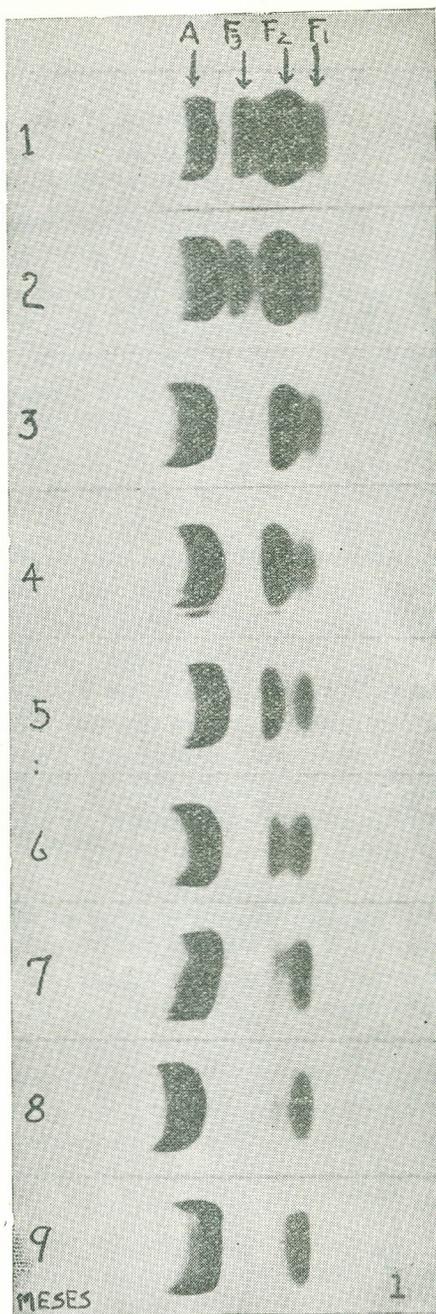


Fig. Nº 1. Evolución de las fracciones F 1, F 2 y F 3, durante el primer año de vida. Nótese el aumento progresivo de la fracción F 1, la disminución de la fracción F 2 y la desaparición de la fracción F 3 a partir del tercer mes de vida.

La fracción F 3 se redujo progresivamente desde niveles de 6.8% hasta los tres meses de edad, cuando desapareció completamente.

El hecho más significativo de este estudio es el paralelismo observado entre la curva de la hemoglobina resistente al álcali y la fracción de F 2, lo que añade evidencia a la suposición de que estas dos hemoglobinas son hemoglobinas fetales.

La desaparición de la fracción F 3 en los tres primeros meses de la vida indica que este pigmento está relacionado a la hemoglobina F, como se demostrará posteriormente.

Experimentos para la identificación de las tres bandas: Se comprobó que las tres bandas "fetales" del cordón umbilical corresponden a pigmentos hemoglobínicos y no a componentes protéicos no hemoglobínicos del hemolizado; las tres bandas, colorearon con bendizina, nitruprusiato y agua oxigenada, demostrando la presencia de ferri-heme (13), que es característico de los pigmentos hemoglobínicos.

Para identificar si las fracciones eran hemoglobinas menores normales del cordón umbilical, se separaron por medio de la electroforesis en bloque de almidón las fracciones A 1, A 2, A 3 y fetal, de una muestra de sangre de adulto y de un cordón umbilical. Estas hemoglobinas ya separadas y concentradas fueron estudiadas por el método de gel de agar en Tris-Edta-Borato a pH 6.2. Los resultados fueron los siguientes: la hemoglobina A 1, se situó en la posición de la hemoglobina A. La hemoglobina A 3, se dividió en dos partes, una mayor que se situó en la posición F 1 y una pequeña parte, en la posición de la hemoglobina A. La hemoglobina A 2 se separó también en dos fracciones, una mayor en la posición de F 1 y una menor en la posición A. Por su parte la hemoglobina F y un pequeño componente en F 3.

De estos experimentos se deduce que la fracción F 1 es una mezcla de hemoglobina A 3 y A 2 y posiblemente proteínas del estroma celular, semejante en su composición a la banda X 1 encontrada por Naiman y Gerald (9).

De las experiencias anteriores también se concluye que la hemoglobina fetal forma el componente F 2 y F 3. Esta última banda observada solamente en niños recién nacidos, hizo suponer que se trataba de un producto derivado de la hemoglobina fetal, posiblemente una forma oxidada, es decir, metemoglobina, ya que los niños recién nacidos



tienen una deficiencia en la actividad enzimática eritrocítica (13, 14, 15) Para comprobar esta suposición se trataron hemolizados normales del cordón umbilical con pequeñas cantidades de sustancias oxidantes para provocar experimentalmente la formación de metemoglobina. A un cc. de hemolizado se agregaron 0.1 cc. de nitrito de sodio o ferricianuro de potasio al 1% y con estas soluciones de metemoglobina se hicieron electroforesis que demostraron que la banda de hemoglobina F 2 desaparece y en su lugar aparece una gran banda en la posición F 3, lo cual demuestra que esta última banda está formada por metemoglobina F. Estudios semejantes verificados con sangre de adulto normal no demostraron la aparición de la banda F 3 ni modificación alguna en la posición de la hemoglobina A, lo que añade evidencia a que la metemoglobina del cordón es de tipo fetal (metemoglobina F). (ver figura N° 5).

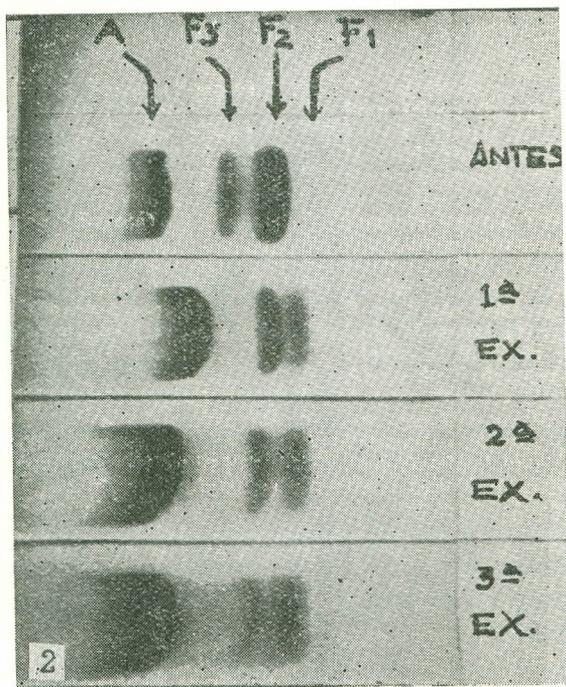


Fig. N° 2. Efectos de la exanguino-transfusión sobre las diferentes fracciones de la hemoglobina del cordón umbilical, separadas por electroforesis en agar-TEB a pH 6.2. Obsérvese la disminución progresiva de los componentes F 2 y F 3, después de la substitución con sangre de un adulto.

Estudio de las hemoglobinas anormales en cordón umbilical. Sobre un total de 378 cordones umbilicales estudiados se encontraron 9 con hemoglobinas anormales. Esto representa un promedio de 2.38%. De estos 9 casos, 7 correspondieron a hemoglobina S, en forma heterocigote y 2 a rasgo de hemoglobina C, lo cual arroja un promedio de 1.85% para rasgo falciforme y 0.53% para rasgo de hemoglobina C. Estas cifras son ligeramente superiores a las obtenidas en adultos en experiencias hechas en 1.000 dadores de Banco de Sangre por nosotros, por el método de metabisulfito de sodio, estudio que fue presentado a la Academia de Medicina de Medellín en 1956. La concentración de estas hemoglobinas anormales en el cordón umbilical puede detallarse en el cuadro siguiente:

Cordón umbilical	Hemogl. anormal	Porcent. de Hemogl.
Nº 13	C	8.4%
Nº 51	S	7.05%
Nº 90	S	3.2%
Nº 103	S	3.7%
Nº 146	S	8.6%
Nº 176	S	3.9%
Nº 232	S	14.%
Nº 235	S	3.9%
Nº 254	C	14.6%

En ninguno de los pacientes con hemoglobina anormal se encontraron variaciones de los componentes F 1, F 2 y F 3. Merece destacarse que con este método fue posible poner en evidencia pequeñas cantidades de hemoglobina anormal como en el caso Nº 90, que sólo contenía 3.2% de hemoglobina S.

COMENTARIOS

El método de electroforesis propuesto en este artículo, difiere de otros métodos que usan como medio de soporte el gel de agar y buffer ácido, en los siguientes aspectos: 1) Utiliza un sistema buffer discontinuo con boratos en los vasos y tris-edta-borato en el puente, lo cual produce una mejor separación de las fracciones de hemoglobina. 2) La concentración iónica es muy baja, lo que evita el calentamiento del agar durante el proceso de electroforesis. La corriente

aplicada es también relativamente baja y el tiempo de la prueba es muy corto, lo cual impide la formación de artefactos por desecación del gel.

La separación de tres fracciones de tipo "fetal", es un hallazgo importante que merece discutirse. La fracción F 1 ocupa una posición semejante a la banda X 1 descrita por Naiman y Gerald, y ambas están compuestas por hemoglobina A 3, A 2 y posiblemente componentes proteínicos del estroma celular. Merece destacarse que la hemoglobina A 3 no se separa de la hemoglobina A, en el método de agar citrato (5-6), como lo ha demostrado Minnich (11). El aumento progresivo de la fracción F 1 desde el momento del nacimiento hasta los 6 meses de edad se puede explicar porque en el recién nacido normalmente se encuentran muy disminuídos algunos componentes que entran a formar parte de esta fracción: la Hemoglobina A 2 está casi ausente durante los 3 primeros meses de la vida y el componente protéico no hemoglobínico formado por enzimas es también bajo debido a la deficiencia enzimática en esta época (colinesteras, glioxilasa, catalasa, anhidrasa carbónica y otras). (13, 16, 17). Estos componentes adquieren los niveles de adulto a los 3 meses de edad.

La fracción F 2 presenta las características de la hemoglobina F, ya que esta banda y la correspondiente a la hemoglobina resistente al álcali presentan una curva de correlación paralela durante los 6 primeros meses de la vida. (ver figura 3). La desaparición de la banda de hemoglobina fetal después de los 6 meses de edad está en concordancia con los hallazgos de Naiman y Gerald, con el método de agar fosfatos.

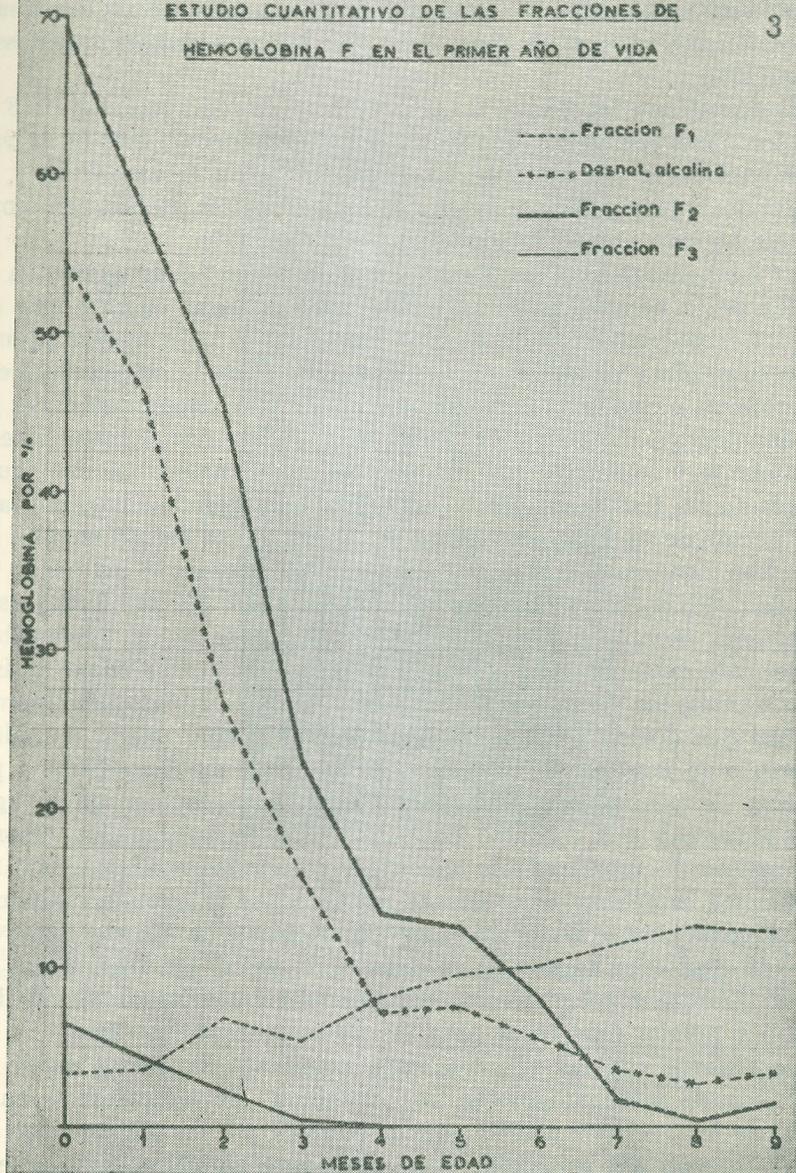
La fracción F 3 merece una discusión especial, ya que esta fracción no ha sido descrita previamente con otras técnicas de electroforesis. Este compuesto es diferente al observado en agar citrato a pH 6.2, entre la hemoglobina A y F, ya que este último se encuentra exclusivamente en hemolizados viejos (11); en nuestro método se encontró en todas las muestras de cordón umbilical recién extraídas y analizadas inmediatamente. Asimismo, las bandas encontradas por Hoerman, denominadas también F 2 y F 3, no son claramente diferenciadas y fueron obtenidas con buffer alcalino a pH 8.4 en gel de almidón adicionado con detergentes catiónicos (TMOD), que al menos teóricamente pueden producir artefactos por desnaturalización y fraccionamiento proteínico (18).

De acuerdo con los experimentos descritos anteriormente en este artículo, podemos afirmar que el componente F 3, es una hemoglo-

CUADRO Nº 3

ESTUDIO CUANTITATIVO DE LAS FRACCIONES DE
HEMOGLOBINA F EN EL PRIMER AÑO DE VIDA

3



bina oxidada en forma de methemoglobina y derivada de la hemoglobina fetal exclusivamente. Esta methemoglobina F, tiene en nuestro método una emigración más lenta que la hemoglobina fetal, posiblemente porque en general todos los compuestos methemoglobínicos tienen una emigración electroforética más lenta que la hemoglobina que les da origen (19).

El significado fisiológico de la presencia de methemoglobina F en todos los niños recién nacidos y en los tres primeros meses de la vida puede explicarse por los defectos metabólicos de la oxidación y reducción de la hemoglobina dentro de los eritrocitos, hecho bien conocido que ha sido objeto de recientes revisiones (17).

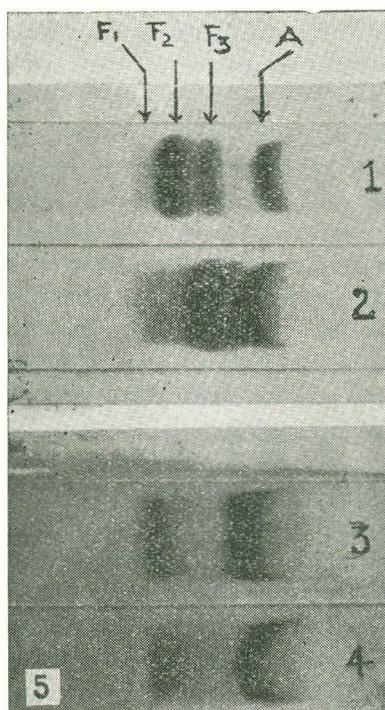
La methemoglobina se origina por un mecanismo de oxidación catabólica de la hemoglobina dentro del glóbulo rojo, cuando este envejece. La concentración de este pigmento en el niño mayor y en el adulto es mínima ya que el mecanismo normal de la célula reduce la hemoglobina oxidada por medio de un sistema dependiente del dipiridilnucleótico (DPNH) (12). En el niño recién nacido este sistema es deficiente y solamente alcanza niveles semejantes a los del adulto después de los tres meses de la vida (20). Esta deficiencia provoca la acumulación de methemoglobina en la sangre de los recién nacidos como lo han demostrado Ross y Desforges (21), debido a los bajos valores de (DPNH) hasta el tercer mes de vida (14, 20, 22). Todas estas alteraciones metabólicas se reflejan clínicamente en la susceptibilidad del niño recién nacido a la acción de drogas o sustancias químicas oxidantes, las cuales desencadenan cianosis o hiperbilirubinemia, en tanto que dosis similares no producen el mismo cuadro en niños mayores o en adultos. Se han descrito crisis de methemoglobina por ingestión de pequeñas cantidades de nitritos contenidos en el agua del acueducto y por contacto con ungüentos de benzocaína, resorcina, ingestión de subnitrito de bismuto y colorantes anilínicos (11, 16). El síndrome es debido a la falta de actividad de la enzima methemoglobina reductasa o diaforasa. Las experiencias de Kunzer han demostrado que este fermento es deficiente hasta los tres meses de edad y Kravitz y col., han encontrado deficiencia hasta los 70 días de edad y niveles más bajos para los niños prematuros (23).

De acuerdo con las observaciones anteriores, la demostración de una banda de methemoglobina por el método de electroforesis en la sangre de los recién nacidos, sería producida por la anormalidad en el metabolismo del eritrocito y es altamente significativo que esta forma de la hemoglobina se encuentre en proporción decreciente has-

ta el tercer
ductasa alc
nera la den
prematuros
servadaen

Efecto
del recién
moglobina
desapareci
el 4, se pu

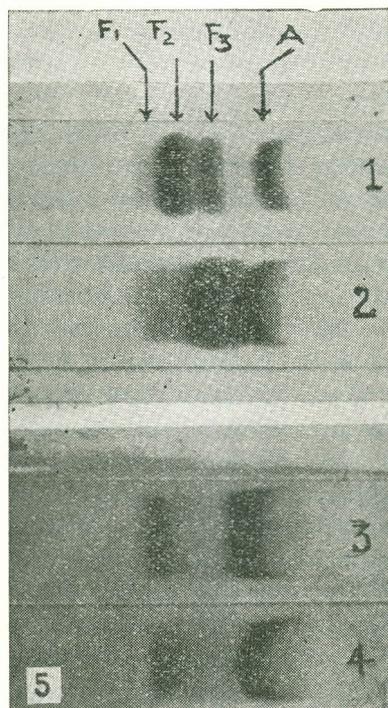
ta el tercer mes de la vida, cuando el DPHN y la metemoglobina reductasa alcanzan los valores normales del adulto. De la misma manera la demostración de una cifra de 27% encontrada en una de los prematuros estudiados está de acuerdo con la deficiencia mayor observada en prematuros (16, 17, 22).



Efectos producidos por los nitritos sobre las fracciones hemoglobínicas del recién nacido y del adulto. Nótese en el N° 1, las tres fracciones de hemoglobina de tipo fetal y la hemoglobina A. En el N° 2, la fracción F 2 ha desaparecido y en su lugar se observa un aumento de la fracción F 3. En el 4, se puede apreciar que la sangre del adulto no sufre la misma alteración.

- 1 Sangre de cordón umbilical normal.
- 2 La misma muestra de sangre del cordón umbilical, reducida con nitrito de sodio.
- 3 Sangre de adulto normal.
- 4 La misma muestra de sangre de adulto reducida con nitrito de sodio.

ta el tercer mes de la vida, cuando el DPHN y la metemoglobina reductasa alcanzan los valores normales del adulto. De la misma manera la demostración de una cifra de 27% encontrada en una de los prematuros estudiados está de acuerdo con la deficiencia mayor observada en prematuros (16, 17, 22).



Efectos producidos por los nitritos sobre las fracciones hemoglobínicas del recién nacido y del adulto. Nótese en el N^o 1, las tres fracciones de hemoglobina de tipo fetal y la hemoglobina A. En el N^o 2, la fracción F₂ ha desaparecido y en su lugar se observa un aumento de la fracción F₃. En el 4, se puede apreciar que la sangre del adulto no sufre la misma alteración.

- 1 Sangre de cordón umbilical normal.
- 2 La misma muestra de sangre del cordón umbilical, reducida con nitrito de sodio.
- 3 Sangre de adulto normal.
- 4 La misma muestra de sangre de adulto reducida con nitrito de sodio.

Es importante destacar que la hemoglobina F 3 (metemoglobina) sea un producto de la oxidación de la hemoglobina fetal y no de la hemoglobina A. Kunzer ha encontrado que la hemoglobina F es más fácilmente oxidable que hemoglobina A y que la tendencia a la oxidación es dos veces mayor en la hemoglobina F. Nosotros hemos demostrado que la oxidación experimental por los oxidantes, tales como el nitrito y el ferricianuro, agregados a la sangre del recién nacido y a la del adulto en la misma concentración no producen alteraciones en el patrón electroforético de la hemoglobina A y en cambio provocan la conversión de la banda F 2, compuesta por hemoglobina fetal, en el componente F 3 o methemoglobina fetal.

Este concepto permite diferenciar dos tipos de methemoglobina: 1) La methemoglobina del recién nacido que se deriva de la oxidación de la hemoglobina fetal. 2) La methemoglobina del adulto y del niño mayor que se deriva de la oxidación de la hemoglobina A.

La methemoglobinemia del tipo fetal resultaría de las condiciones inherentes a la sangre del recién nacido entre las cuales merece destacarse: 1) Las altas concentraciones de la hemoglobina fetal en la peri-natal. 2) El catabolismo exagerado de la hemoglobina F, durante los dos o tres primeros meses de la vida, demostrable por la marcada disminución de la hemoglobina fetal en la sangre. 3) El tiempo menor de supervivencia de los eritrocitos, cuyo T $\frac{1}{2}$ no alcanza a ser mayor de los 50 días (17). La tendencia a una mayor facilidad en la oxidación de la hemoglobina F, la cual parece ser dos veces mayor que la de la hemoglobina A. (16). Estas condiciones podrían estar en relación con algunos síndromes hemolíticos de la edad neo-natal, descritos en la literatura. El síndrome de picnocitosis infantil descrito por Tuffy y col., se observa solamente durante el primer trimestre de la vida y está condicionado a alteraciones del metabolismo eritrocítico en esta edad. Se reconoce por eritrocitos distorsionados, densos espinosos, acompañados de hiperbilirrubinemia y esplenomegalia. Su causa es desconocida, pero se ha podido observar que hay un mecanismo hemolítico de tipo extra-corporal de carácter transitorio (24). Asimismo, el síndrome hemolítico agudo con distorsión de los eritrocitos descrito por Allison, es una anemia hemolítica del recién nacido con presencia de cuerpos de Heinz, fragmentación eritrocítica, y disminución de la catalasa (25). Por su parte, Gasser, también ha descrito anomalías morfológicas de los eritrocitos (células estrelladas) asociadas a cuerpos de Heinz y solamente en un período de unas tres semanas después del nacimiento (15).

Recientemente Allen y col. encontraron un componente menor de la hemoglobina fetal llamado fracción F 1, en todos los cordones umbilicales normales y que es siempre constante en relación al componente fetal mayor. Su concentración oscila alrededor del 10% y se caracteriza por la presencia de un radical acetyl unido al grupo N-terminal de una de las cadenas gama (26). Esta fracción (hemoglobina F 1 de Allen) y la fracción F 3, encontrada por nosotros por medio de electroforesis tienen al menos tres propiedades comunes, a saber: 1) El hallazgo constante en todas las muestras de sangre de cordón umbilical. 2) El porcentaje de concentración, alrededor del 10%. 3) La presencia de una banda semejante, en casos de talasemia mayor.

Esta misma fracción ha sido observada por nosotros en niños mayores de un año de edad, que sufrían anemias hemolíticas graves, tales como talasemia mayor y anemia falciforme en crisis, en las cuales se comprobó, además que existía un aumento de la hemoglobina resistente al álcali. En estas enfermedades el tiempo de vida de los eritrocitos está disminuído y hay un mayor catabolismo de la hemoglobina con liberación de pigmentos hemoglobínicos en el suero. (27). Ciertos investigadores han sugerido que la unión de la hemoglobina con el glutactión podría producir ciertos cambios en la emigración de la hemoglobina fetal envejecida dentro del eritrocito (28).

La aparición de un patrón electroforético que semeja al del recién nacido o al del lactante en los pacientes con anemias hemolíticas, parece insinuar un mecanismo regresivo hacia el patrón fetal. Nos es posible explicar satisfactoriamente la razón de estas alteraciones hemoglobínicas, pero teóricamente podría considerarse como un efecto de una función anormal de los eritrocitos o de una eritropoyesis de tipo fetal o extra-medular. Ninguna de estas suposiciones ha sido demostrada pero pueden ser consideradas como hipótesis de trabajo para futuras investigaciones.

R E S U M E N

Se presenta un nuevo método de electroforesis en agar gel con buffer Tris-Edta-Borato a pH 6.2, en un sistema discontinuo, que separa las hemoglobinas anormales, la hemoglobina fetal y dos componentes más. Estas tres últimas fracciones se han designado provisionalmente con los nombres F 1, F 2 y F 3 y ha sido posible identificarlos en todas las muestras de sangre de cordones umbilicales normales y en la sangre del recién nacido hasta los tres meses de edad.



Se demuestra que la fracción F 1 es una mezcla de hemoglobina A 3, A2 y posiblemente proteínas no hemoglobínicas del estroma celular. La banda F 2 corresponde a la hemoglobina fetal propiamente dicha (hemoglobina resistente al álcali) y la banda F 3 está constituida por methemoglobina derivada de la hemoglobina fetal (methemoglobina F).

Se presentan los resultados cuantitativos obtenidos en 378 cordones umbilicales, y se hace un estudio cuantitativo de las fracciones arriba anotadas, durante el primer año de vida. Asimismo, se presenta un estudio sobre la incidencia de las hemoglobinas anormales en la misma serie de cordones, haciendo énfasis, sobre los porcentajes mínimos encontrados.

Se discute el posible significado de los hallazgos y las causas patológicas que producen variaciones en el patrón electroforético.

Se sugiere que la methemoglobina encontrada en los niños recién nacidos y en lactantes hasta los tres meses de edad sea debida a un defecto enzimático en el metabolismo de los eritrocitos, posiblemente una deficiencia de methemoglobina reductasa.

S Y N O P S I S

A new method of agar gel electrophoresis is described. The technique is based on the use of a discontinuous buffer system of borate pH 6.4 and Tris-Edta-Borate pH 6.2, which resolves the fetal band in three components. These fractions are detected in the umbilical cord blood of all new born babies and in the blood of babies up to three months of age. They were designed as F 1, F 2 and F 3 bands.

Isolated known hemoglobins such as A 1, A 2, A 3 and F, separated by starch block electrophoresis were studied by the new method.

Fraction F 1 is a mixture of hemoglobin A 2, A 3 and probably, non hemoglobin proteins. Fraction F 2, is fetal hemoglobin and fraction F 3 is a methemoglobin compound related to hemoglobin F.

A discussion on the significance of these findings is presented. The authors suggest that the methemoglobin F observed in the early months of life is a result of an enzymatic defect of the metabolism of the erythrocytes. This fetal methemoglobinemia seems to be different from adult methemoglobinemia, derived from hemoglobin A.

A study on abnormal hemoglobins in umbilical cord blood is presented which demonstrates an incidence of 2.38% for abnormal hemoglobins in new borns of the random population of Medellin. Hemoglobin S was detected in 1.85% and hemoglobin C in 0.53%.

- 21 Ross, J. D., Desforges, J. F.: Production of Methemoglobin by erythrocytes from cord blood. *Pediatrics* 23, 718, 1959.
- 22 Gross, R. T., and Hurwitz, R. E.: Pentose phosphate pathway in human erythrocytes *Pediatrics*, 22, 453, 1958.
- 23 Kravisz, H. Elegant, L. D., Kaiser, E. and Kagan, B. M.: Methemoglobin values in prematures and matures infants and children. *Am. J. Dis. Child*, 91, 1, 1956.
- 24 Tuffy, P., Brown, A. K. and Zuelzer, W. W.: Infantile Pycnocytois: A common erythrocyte abnormality of the first trimester. *A.M.A. J. Dis. Child*. 98, 227, 1959.
- 25 Allison, A. C.: Acute hemolytic anemia with distorsion and fragmentation of the erithrocytes. *Brit. J. Hematol.* 3, 1, 1957.
- 26 Schroeder, W. A., Cua. J. T. Matsuda, G., Fenninger, W. D.: Hemoglobin F 1, an acetil containing hemoglobin. *Biochim. Biophysic. Acta* 63, 532, 1962.
- 27 Upshaw, J. D. Iuchi, I., Diggs, L. and Lyle, D.: Serum bendizine positive pigments in sickle cell anemia. *J. Lab. Clin. Med.* 62, 950, 1961.
- 28 Allen, D. W., Jandl, J. H.: Oxidative hemolysis and precipitation of hemoglobins. *J. Clin. Invest.* 40, 454, 1961.

RELACIONES ENTRE LA ATEROESCLEROSIS Y LA HIPERTENSION

Nubia Muñoz
Pelayo Correa
Egon Lichtenberger

*
**

A pesar de que se piensa que la hipertensión agrava el proceso aterosclerótico, en algunos países como Colombia y el Japón (1-2), existe una alta incidencia de hipertensión, y una baja incidencia de infarto del miocardio, el cual se considera la complicación más frecuente del proceso aterosclerótico avanzado. Para tratar de comprender mejor este fenómeno hemos evaluado la extensión del proceso aterosclerótico en las aortas y coronarias de pacientes hipertensos y no hipertensos de Cali y Bogotá. El material pertenece al Proyecto Internacional de Aterosclerosis, hecho mediante cooperación de varios patólogos de diferentes países y que tiene por Investigador principal al doctor Henry C. McGill Jr., de la Universidad del Estado de Lousiana, Estados Unidos.

Las relaciones entre la hipertensión y la aterosclerosis han sido estudiadas de las siguientes maneras:

1 - **Estudios en poblaciones:** Se han realizado estudios prospectivos y retrospectivos de este problema. En los prospectivos se han tomado individuos en diferentes comunidades y se han clasificado en

* Residente, Dpto. de Patología, Universidad del Valle.

** Profesor de Patología, Universidad del Valle.

*** Profesor de Patología, Universidad Nacional.

Trabajo realizado mediante una donación de los Institutos Nacionales de Salud, Servicio de Salud Pública, Estados Unidos.

hipertensos y normotensos. Se han observado por períodos variables de tiempo encontrándose que la morbilidad y mortalidad por enfermedad coronaria es mayor en los hipertensos que en los normotensos. Un ejemplo de este estudio es el que se realiza en Framingham, a partir de 1950, planeado para 20 años (2-3). En los estudios retrospectivos publicados se han comparado individuos con enfermedad coronaria con un grupo control (sin enfermedad coronaria) y se ha encontrado que hay mayor número de hipertensos en el grupo de pacientes con enfermedad coronaria, que en el control (5).

2 - **Estudios experimentales:** Se han hecho numerosos trabajos en animales de laboratorio (pollos, patos, perros y simios), induciendo hipertensión arterial y se ha observado en ellos una mayor extensión y severidad de lesiones ateroscleróticas, comparadas con un grupo control normotenso (6, 7, 8, 9).

3 - **Observaciones fisiológicas y patológicas en el sistema vascular.** La aterosclerosis en las arterias pulmonares es poco frecuente comparada con la del circuito arterial sistemático. La presión en las arterias pulmonares es más baja que la sistémica. Cuando aumenta la presión pulmonar, aumentan también las lesiones ateroscleróticas (10). En el circuito sistémico, cuando hay hipertensión focal, la aterosclerosis es más severa en los sitios de mayor presión. Esto se observa en la coartación aórtica, el síndrome de Leriche o en cualquier obstrucción arterial. (10). Cuando una arteria coronaria tiene su origen anómalo en una arteria pulmonar, y la otra nace normalmente de la aorta, la coronaria que nace de la pulmonar, que está sujeta a menor presión, no desarrolla aterosclerosis; en cambio la que se origina en la aorta, sujeta a una mayor presión, presenta lesiones ateroscleróticas (11).

De estos tres tipos de evidencia científica podemos concluir que existe una relación entre la hipertensión y la aterosclerosis, pero no podemos afirmar que esta relación sea casual. Con el fin de observar sobre cual de las etapas del proceso aterosclerótico ejerce su influencia la hipertensión, realizamos el siguiente estudio.

M A T E R I A L

Se estudiaron 1.429 aortas y coronarias de personas de diez a sesenta y nueve años de edad, en Cali y Bogotá y se clasificaron en dos grupos: hipertensos y no hipertensos. Por hipertensos se tuvieron aquellos con diagnóstico clínico o evidencia patológica clara de dicho

hipertensos y normotensos. Se han observado por períodos variables de tiempo encontrándose que la morbilidad y mortalidad por enfermedad coronaria es mayor en los hipertensos que en los normotensos. Un ejemplo de este estudio es el que se realiza en Framingham, a partir de 1950, planeado para 20 años (2-3). En los estudios retrospectivos publicados se han comparado individuos con enfermedad coronaria con un grupo control (sin enfermedad coronaria) y se ha encontrado que hay mayor números de hipertensos en el grupo de pacientes con enfermedad coronaria, que en el control (5).

2 - Estudios experimentales: Se han hecho numerosos trabajos en animales de laboratorio (pollos, patos, perros y simios), induciéndoles hipertensión arterial y se ha observado en ellos una mayor extensión y severidad de lesiones ateroscleróticas, comparadas con un grupo control normotenso (6, 7, 8, 9).

3 - Observaciones fisiológicas y patológicas en el sistema vascular. La aterosclerosis en las arterias pulmonares es poco frecuente comparada con la del circuito arterial sistemático. La presión en las arterias pulmonares es más baja que la sistémica. Cuando aumenta la presión pulmonar, aumentan también las lesiones ateroscleróticas (10). En el circuito sistémico, cuando hay hipertensión focal, la aterosclerosis es más severa en los sitios de mayor presión. Esto se observa en la coartación aórtica, el síndrome de Leriche o en cualquier obstrucción arterial. (10). Cuando una arteria coronaria tiene su origen anómalo en una arteria pulmonar, y la otra nace normalmente de la aorta, la coronaria que nace de la pulmonar, que está sujeta a menor presión, no desarrolla aterosclerosis; en cambio la que se origina en la aorta, sujeta a una mayor presión, presenta lesiones ateroscleróticas (11).

De estos tres tipos de evidencia científica podemos concluir que existe una relación entre la hipertensión y la aterosclerosis, pero no podemos afirmar que esta relación sea casual. Con el fin de observar sobre cual de las etapas del proceso aterosclerótico ejerce su influencia la hipertensión, realizamos el siguiente estudio.

M A T E R I A L

Se estudiaron 1.429 aortas y coronarias de personas de diez a sesenta y nueve años de edad, en Cali y Bogotá y se clasificaron en dos grupos: hipertensos y no hipertensos. Por hipertensos se tuvieron aquellos con diagnóstico clínico o evidencia patológica clara de dicho

síndrome. Seiscientos veinticinco hombres y seiscientas mujeres fueron clasificados como hipertensos y 90 hombres y 114 mujeres fueron clasificados como hipertensos. Los especímenes fueron enviados a un laboratorio central con datos clínicos y de autopsia. Allí las lesiones de acuerdo a métodos visuales, siguiendo la metodología descrita en otras publicaciones (12-13). Primero se estimó el porcentaje de la superficie interna afectada por todos los tipos de lesiones ateroscleróticas y luego se estimó el porcentaje de la íntima afectada por cada tipo de lesión, a saber:

1) Estrías grasas. 2) Placas fibrosas. 3) Lesiones complicadas por hemorragia, ulceración o trombosis. 4) Calcificación. Consideramos para nuestro estudio solamente las estrías grasas y placas fibrosas, debido a que el número de casos con lesiones complicadas y calcificadas era muy pequeño.

R E S U L T A D O S

En el cuadro N° 1 y la gráfica N° 1, vemos cómo la hipertensión no ejerce una influencia estadísticamente significativa sobre las estrías grasas, pero sí sobre las placas fibrosas en todas las edades.

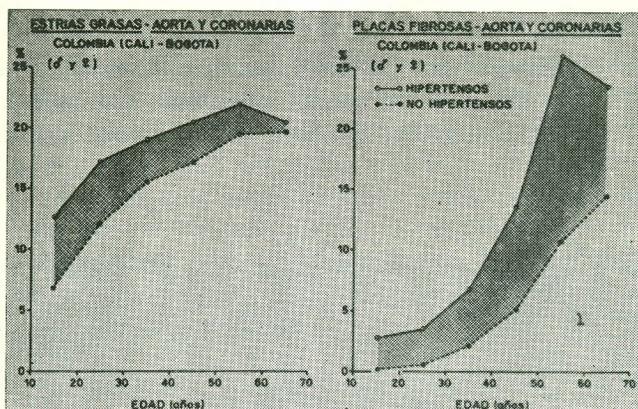
Sin embargo, debido a que las diferencias en las estrías grasas entre los hipertensos y no hipertensos, a pesar de no ser significantes, casi llegan al límite inferior de significancia estadística, es posible que con una muestra mayor, dichas diferencias se tornen significantes. Al comparar el efecto de la hipertensión sobre las placas fibrosas (cuadro N° 2, gráfica N° 2), vemos que este efecto es mayor en las coronarias de los 10 a los 39 años, pero de los 40 a los 69 años el efecto de la hipertensión es mayor en la aorta abdominal.

Como nuestro estudio no tuvo en cuenta la duración ni la intensidad de la hipertensión, tratamos de juzgar la importancia de estos factores por medio de su capacidad de producir hipertrofia cardíaca en la suposición de que toda hipertensión importante y sostenida produce cardiomegalia. Al separar del total de hipertensos aquellos cuyos corazones pesaban menos de 300 gramos y analizar el incremento de las placas fibrosas (cuadro N° 3, gráfica N° 3), observamos que este incremento es menor en el grupo de hipertensos con corazones de menos de 300 gramos de peso que en el grupo total de hipertensos. Por lo tanto, si excluimos del total de hipertensos a los que tienen corazones menores de 300 gramos, el incremento de las placas fibro-

CUADRO N° 1

PORCENTAJE DE COMPROMISO DE LA SUPERFICIE DE LA AORTA
Y CORONARIAS POR ESTRIAS GRASAS FIBROSAS EN AMBOS SEXOS
CALI - BOGOTA

Grupos de edad	N° de casos	NO HIPERTENSOS		N° de casos	HIPERTENSOS		NIVEL DE SIGNIFICANCIA	
		% E. Grasas	% P. Fibr.		% E. Grasas	% P. Fibr.	E. Grasas	P. Fibrasas
10-19	126	6.81	0.13	14	12.84	2.79	P<0.10	P<0.05
20-29	206	12.12	0.61	24	17.33	3.53	P<0.10	P<0.01
30-39	216	15.62	2.22	31	19.14	6.79	P<0.10	P<0.001
40-49	214	17.22	5.03	35	20.57	13.52	P<0.10	P<0.001
50-59	226	19.60	10.67	45	22.23	26.00	P<0.10	P<0.001
60-69	237	19.59	14.56	55	20.55	23.60	P<0.10	P<0.01



C U A D R O N ° 2

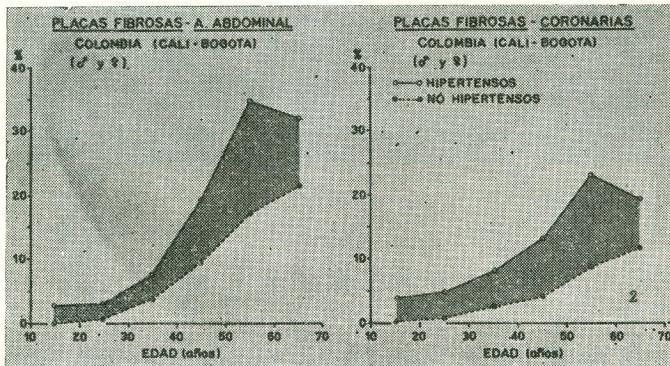
PORCENTAJE DE COMPROMISO DE LA SUPERFICIE DE AORTA ABDOMINAL Y CORONARIAS POR PLACAS FIBROSAS EN AMBOS SEXOS

CALI - BOGOTA

Grupos de edad	Nº de casos		% de placas Fib. A. abdominal		% de placas Fib. coronarias	
	No hipertens.	Hipertensos	No hipertens.	Hipertensos	No hipertens.	Hipertensos
10—19	126	14	0.05	2.70	0.19	3.73
20—29	206	24	0.63	2.77	0.67	4.85
30—39	216	31	3.74	7.49	2.61	7.97
40—49	214	35	9.26	18.90	4.05	13.04
50—59	226	45	16.89	34.64	8.48	23.03
60—69	237	55	21.50	32.36	11.50	18.72

sas con relación a los no hipertensos sería mucho mayor que el observado en las gráficas Nros 1 y 2.

En relación al sexo (cuadro N° 4, gráfica N° 4), a nivel de coronarias observamos que la hipertensión obra más o menos con la misma intensidad sobre las placas fibrosas de los hombres y de las mujeres.



Cómo podría pensarse que al incluir los casos de enfermedad coronaria estaríamos introduciendo otros posibles factores etiológicos productores de aterosclerosis y por lo tanto viciando la comparación estadística, estudiamos el efecto de excluir los casos de enfermedad coronaria en un subgrupo. No encontramos diferencias significativas en el porcentaje de la superficie arterial comprometida por placas fibrosas en pacientes con infarto asociado o no a hipertensión. Por ello no consideramos necesario excluir dichos casos del total.

DISCUSION

De lo anterior podemos deducir que la hipertensión arterial está asociada con un aumento de la extensión de la superficie arterial comprometida por placas fibrosas. El mecanismo por el cual aumentan las placas fibrosas es desconocido. Podría actuar acelerando el paso de estrías grasas a placas fibrosas o produciendo nuevas placas fibrosas.

Al analizar el efecto de la hipertensión en los diferentes sectores, observamos que es mayor en las coronarias hasta los 40 años y luego

es mayor sobre la aorta abdominal. Posibles explicaciones para este fenómeno pueden ser las diferencias hemodinámicas en los diferentes sectores arteriales o diferencias estructurales en las paredes arteriales.

Al estudiar el incremento de las placas fibrosas con relación al grado de hipertensión, evaluada de acuerdo al peso del corazón, observamos que en las personas con corazón de menos de 300 gramos de peso, el incremento de las placas fibrosas es menor que en el total de hipertensos. El incremento de las placas fibrosas es por lo tanto, aparentemente, directamente proporcional a la duración y la intensidad de hipertensión.

El cuadro N° 5 pretende explorar de una manera simplificada y esquemática la interrelación entre los diferentes factores etiológicos de la aterosclerosis. Este síndrome tiene 3 tipos de lesiones: estrías grasas, placas fibrosas y lesiones complicadas. El paso de placas fibrosas a lesiones complicadas parece demostrado, pero el paso de estrías grasas a placas fibrosas no está completamente aclarado.

C U A D R O N ° 3

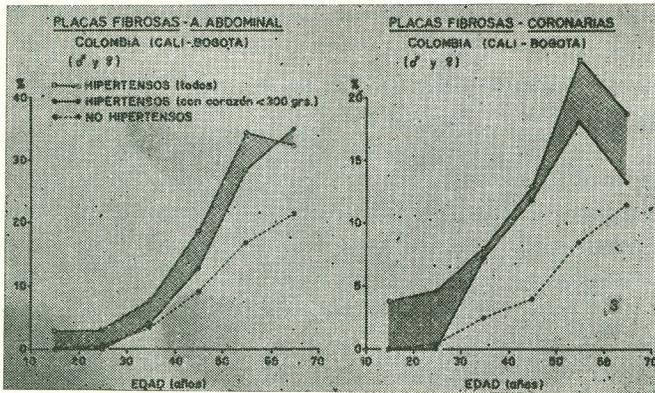
PORCENTAJE DE COMPROMISO DE LA SUPERFICIE DE LA AORTA ABDOMINAL Y CORONARIAS POR PLACAS FIBROSAS EN HIPERTENSOS SEGUN EL PESO DEL CORAZON CALI - BOGOTA

Grupos de edad	H I P E R T E N S O S			
	Aorta abdominal % Placas fibrosas		Coronarias % Placas fibrosas	
	A	B	A	B
10—19	0	2.70	0	3.73
20—29	0	2.77	0	4.85
30—39	3.95	7.49	7.20	7.97
40—49	12.70	18.90	12.10	13.04
50—59	28.20	34.64	18.00	23.03
60—69	35.80	32.36	13.40	18.72

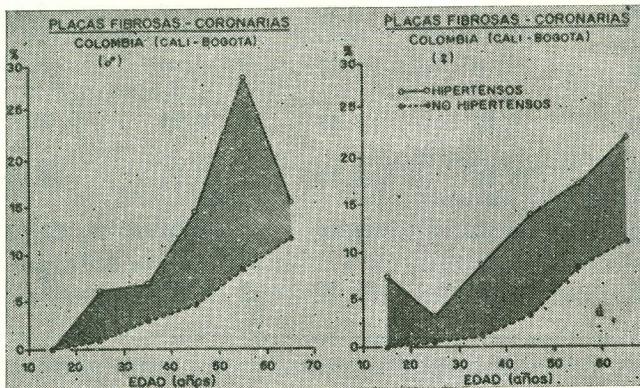
A = HIPERTENSOS CON CORAZONES MENORES DE 300 GRs.

B = TOTAL DE HIPERTENSOS

Los factores que teóricamente podrían actuar sobre las estrías grasas son: el terreno genético que determina el sexo y la raza. El nivel de lípidos sanguíneos, sobre el cual influyen otros factores como la dieta, la obesidad y la diabetes.



Los factores que podrían actuar sobre las placas fibrosas son, entre otros, el terreno genético y la hipertensión. El presente estudio parece indicar que realmente existe una influencia de la hipertensión sobre las placas fibrosas. Sobre la hipertensión actuarían otros factores como la angustia crónica y las enfermedades renales.



C U A D R O N ° 4

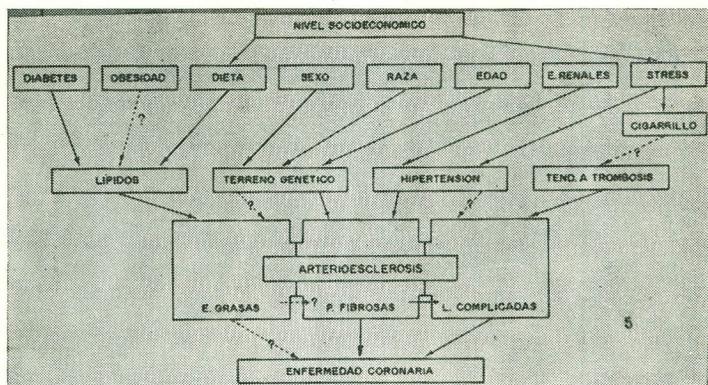
PORCENTAJE DE COMPROMISOS DE LA SUPERFICIE DE LAS
CORONARIAS POR PLACAS FIBROSAS EN HOMBRE Y MUJERES

CALI - BOGOTA

GRUPOS DE EDAD	H O M B R E S				M U J E R E S			
	NO HIPERTENSOS		HIPERTENSOS		NO HIPERTENSOS		HIPERTENSOS	
	Nº de casos	% P. Fib.						
10—19	58	0.36	3	0	68	0.22	11	7.46
20—29	109	0.88	10	6.39	97	0.45	14	3.30
30—39	93	3.25	11	7.16	123	1.18	20	8.77
40—49	109	4.75	10	14.78	105	3.34	25	14.14
50—59	135	8.40	26	28.83	91	8.57	19	17.22
60—69	121	11.90	30	15.45	116	11.11	25	21.99

RECIBIDO
14 JUL 1953
BIBLIOTECA
Universidad de Calicut

En la producción de lesiones complicadas podrían actuar muchos factores, entre ellos la tendencia a la trombosis, de la cual se sospecha que podría estar relacionada con el hábito de fumar (3).



Ya hemos mencionado que existen varios países como Colombia y Japón con un alto índice de hipertensión y una baja tasa de mortalidad por enfermedad coronaria. El presente estudio demuestra que Colombia no es excepción al efecto agravante de la hipertensión sobre la aterosclerosis. Es posible, sin embargo, que el nivel basal de lesiones ateroscleróticas, relacionado a otros factores etiológicos, sea tan bajo en nuestro país que la abundante hipertensión no alcance a intensificar las lesiones coronarias hasta el punto de producir una elevada tasa de mortalidad por infartos cardíacos. Podría pensarse que se requiere un nivel basal elevado para que las placas fibrosas evolucionen a lesiones complicadas y por lo tanto se manifiesten clínicamente. Otra explicación de este fenómeno, podría residir en diferencias en los factores que influyen sobre la producción de lesiones complicadas.

RESUMEN

Se estudiaron 1.429 aortas y coronarias de personas de 10 a 69 años provenientes de autopsias practicadas en Cali y Bogotá. Fueron clasificadas en dos grupos: hipertensos y no hipertensos. Se encontró que la acción principal de la hipertensión consiste en el aumento de

las placas fibrosas. Se propone un esbozo de teoría etiopatogénica de la aterosclerosis.

S Y N O P S I S

There have been studied 1.429 aortas and coronary arteries from autopsies of patients from 10 to 69 years of age, at the Hospital Universitario del Valle in Cali and San Juan de Dios in Bogotá. They were classified in two groups, hypertensives and non hipertensives. There is a direct association between hypertension and the increase of fibrous plaques in theses arteries. It is proposed a new etiopathogenic theory of arterioesclerosis.

R E F E R E N C I A S :

- 1 Correa, P., Llanos, G., Aguilera, B.: Estudio sobre causas de muerte en Cali. *Antioquia Médica* 1414: 1964.
- 2 Switzer, S.: Hypertension and ischemic heart disease in Hiroshima, Japan. *Circulation*, 28: 368, 1963.
- 3 Dawber, T., Kannel, W., Revotskie, N., Kagan, A.: The epidemiology of coronary heart disease. *The Framingham Enquiry. Proc. Rog. Soc. Med.* 55: 265, 1962.
- 4 Méndez, L., R. Ordóñez de la Mora B.: Epidemiología de la hipertensión arterial y de la isquemia miocárdica. *Bol. de la Of. Sanit. Panam. Vol. LVII, N° 3, Sept. 64.*
- 5 Lober, P. H.: Pathogenesis of coronary sclerosis. *Arch. of Path.* 55: 537, 1953.
- 6 Bronte-Stewart, B., Heptinstall, R. H.: The relation between experimental hypertension and cholesterol induced atheroma in rabbits. *J. Path. & Bact.* 86° 407, 1954.
- 7 Deming, Q. R., Daly, N. M.: Effect of antehypertensive treatment in the rat on the pontentiation of atherogenesis by experimental hypertension *J. Clin. Invest.* 39: 980, 1960.
- 8 McGill, H. C., Frank, M.: Aortic lesions in hypertensive monkeys. *Arch. of Path.* 71: 96: 1961.
- 9 Stanley, W., O'Neal, R.: Experimental production of coronary atherosclerosis. *The Amer. J. of Card.* 9: 355, 1962.
- 10 Burch, G., Phillips, J.: Hypertension and arteriosclerosis. *Amer. Heart J.* 60: 163, 1960.
- 11 Burch, G., De Pascuale, N.: Arteriosclerosis in high-pressure and low-pressure coronary arteries. *Amer. Heart J.* 63: 720, 1962.
- 12 Strong, J. P.: Symposium on arteriosclerosis. *Inter-American Studies of Pathology. Proc. Roy. Soc. Med.* 55: 274, 1962.
- 13 Restrepo, C., Strong, J. P. McGill, H. P.: The Natural History of aortic and coronary Necropsy Examination. *J. Atherosclerosis Res.* 4: 213, 1964.

ACIDO ETACRINICO EN PACIENTES EDEMOTOSOS +

Dres. Leonel Ospina Rodríguez **
Salomón Bermúdez R. **
Hernán Torres Iregui **

INTRODUCCION

Debido a que el edema es uno de los problemas más corrientes en la práctica médica y que muchos de los diuréticos como la clorotiazida, los mercuriales, el cloruro de amonio y los antagonistas de la aldosterona no han actuado satisfactoriamente en algunos pacientes, hemos resuelto evaluar la respuesta de un nuevo diurético, el ácido etacrínico, primeramente empleado en vía experimental por Baer y colaboradores (1) y que en los últimos tiempos se ha utilizado en clínica.

Material y Métodos.

Veinte pacientes ingresados al Servicio de Medicina Interna del Hospital Militar Central por edema de diferentes etiologías (Tabla I) fueron sometidos a una dosis variable de ácido etacrínico. Se les practicó examen clínico de rutina y los síntomas y signos evaluados en grados de 0 a 4 de acuerdo con su intensidad (Gráfica I). Se les controló peso, diuresis, sodio y potasio en sangre, eliminación de sodio y potasio en orina de 24 horas, durante todo el tratamiento. La dosis inicial fue de 50 mgs. Si no se obtenía respuesta con esta dosis, se elevaba a 100, a 150 y hasta 200 mgs., repartidos en las 24 horas.

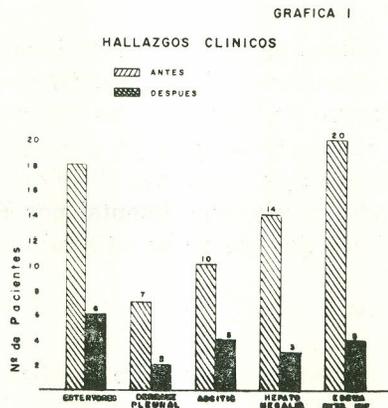
* Trabajo realizado en el Hospital Militar Central, Departamento de Medicina.
** Instructores de Medicina Interna, Universidad Javeriana, Bogotá - Colombia.

De los veinte pacientes once eran mujeres y nueve hombres. Las edades variaron entre 12 y 71 años, con un promedio de 41 años.

Las causas del edema fueron las siguientes: insuficiencia cardíaca congestiva por hipertensión arterial en 5 pacientes; anasarca por síndrome nefrótico en 3 pacientes; insuficiencia cardíaca congestiva por Cor Pulmonale crónico en 2 pacientes; insuficiencia cardíaca congestiva por cardioangioesclerosis en 2 pacientes; insuficiencia cardíaca congestiva por carditis reumática en 2 pacientes; anasarca por intoxicación hidrosalina en 1 paciente; insuficiencia cardíaca congestiva, cirrosis por cardiopatía congénita en 1 paciente; carcinomatosis en 1 paciente; edema por cirrosis portal en 1 paciente.

Hallazgos Clínicos.

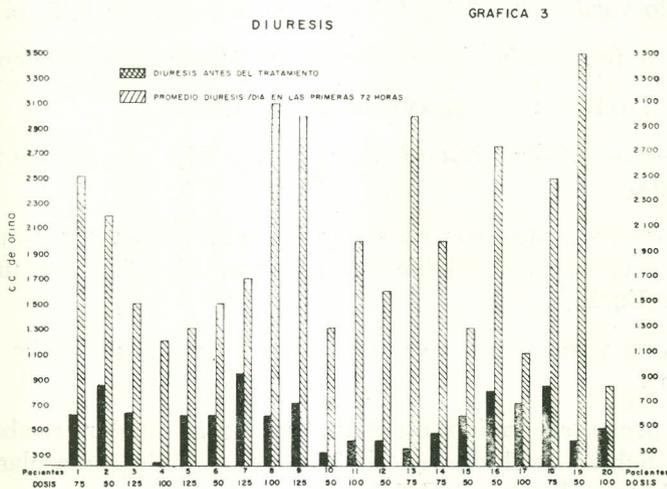
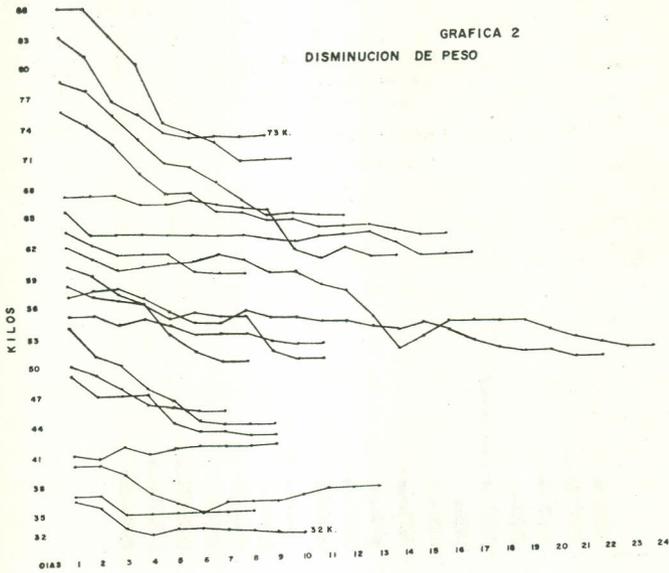
Se encontraron estertores en 18 pacientes, 7 pacientes con derrame pleural, 10 pacientes presentaron ascitis, 14 pacientes tuvieron hepatomegalia. Todos presentaban edema de miembros inferiores (Gráf. 1).

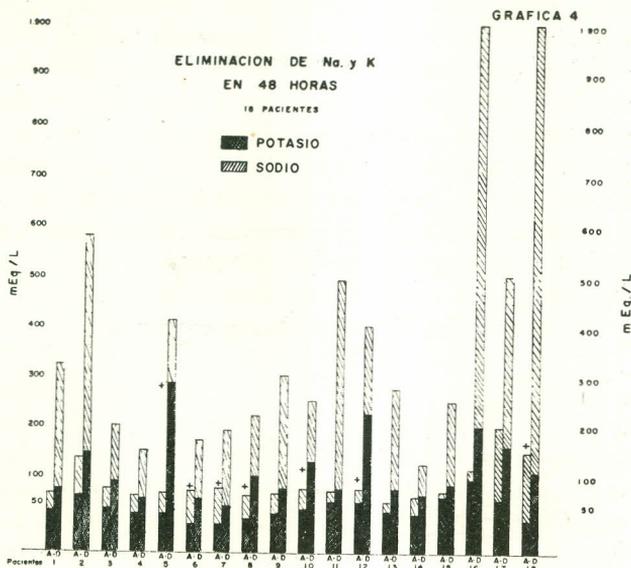


El peso al ingreso varió entre 35 y 86 kilos, con un promedio de 59 kilos. (Gráfica 2).

La diuresis osciló entre 250 y 950 cc., con un promedio de 570 cc. en las 24 horas. (Gráfica 3).

La tensión arterial varió entre 245/145 y 100/80. Seis pacientes que tuvieron por encima de 100 mm. de Hg. la presión diastólica y 5 pacientes por encima de 140 la sistólica, fueron considerados como hipertensos.





La dosis osciló entre 50 y 200 mgrs. Cuatro pacientes necesitaron 50 mg.; cuatro necesitaron 100 mgrs.; 7 necesitaron 150 mgrs. y cinco necesitaron 200 mgrs.

El sodio en sangre varió de 128 a 155 mEq/L., con un promedio de 141 mEq/.

El potasio varió entre 2,8 y 6,4 con un promedio de 4,15 mEq/L.

El cloro fue dosificado solamente en 8 pacientes, oscilando entre 80 y 106 mEq/L. con un promedio de 93 mEq/L.

La reserva alcalina fluctuó entre 13,2 y 27,5 con un promedio de 22.50 mEq/L.

Todos los pacientes, con excepción de tres, venían con dieta sin sal.

El sodio en orina de 24 horas varió entre 50 y 200, con un promedio de 84 mEq/L.

El potasio varió entre 45 y 100 mEq/L., con un promedio de 36 en las 24 horas.

Trece pacientes habían recibido tiazida; 11 habían recibido mercuriales; 8 habían recibido digital; 1 había recibido acetazolamida y 1 había recibido aldactone. (Gráfica 7).

Resultados.

La evolución clínica de nuestros pacientes fue la siguiente:

De 18 pacientes que presentaban estertores, desaparecieron en 12; en 6 persistieron en menor intensidad, tres de los cuales tenían lesión pulmonar severa.

El derrame pleural persistió en dos pacientes, uno de los cuales tenía carcinoma metastásico a pleura. En 5 pacientes desapareció la ascitis. En todos los 14 pacientes con hepatomegalia hubo notoria disminución de ésta y solamente persistió moderadamente en 3.

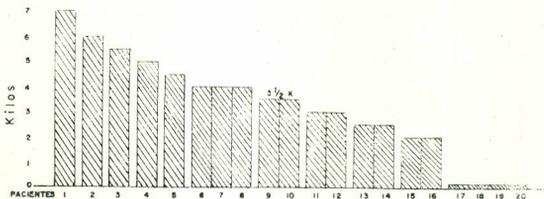
Solamente 5 pacientes presentaron moderado edema después del tratamiento.

El peso (gráfica 2) varió entre 32 y 73 kilos con un promedio de 51.5 kilos después del tratamiento. La disminución de peso en las primeras 48 horas varió entre 0 y 7 kilogramos, con un promedio de 3.5 kilos. Solamente 3 pacientes no rebajaron de peso en las primeras 48 horas, uno de los cuales (número 17) descendió dos kilogramos al día siguiente y otro (caso N° 18), al aumentarse la dosis a 100 mgs., descendió 3 kilogramos.

La diuresis (Gráfica 3) de las primeras 72 horas varió entre 900 y 3.500 cc. con un promedio de 2.000. Todos los pacientes duplicaron su diuresis. 10 pacientes con promedio de más de 2.000 cc. habían tenido una diuresis de 615 cc. antes del tratamiento. Recibieron como dosis promedio 75 mgrs. de ácido etacrínico. El paciente que obtuvo la mayor diuresis tan sólo recibió 50 mgrs. Dos de los 10 pacientes restantes que orinaron menos de 2.000 cc. (casos 15 y 17) recibieron una dosis única de 50 mgrs. el primer día. La dosis promedio de todos ellos fue de 75 mgrs. La presión arterial varió entre 180/100 y 120/80. De

GRAFICA 5

PERDIDA DE PESO EN LAS PRIMERAS 48 HORAS



los 6 pacientes que tenían TA por encima de 100 la diastólica, descendió en cuatro. En todos hubo un descenso de la presión sistólica entre 90 mm. y 10 mm. con promedio de 50 mm. El promedio de descenso de la presión diastólica fue de 35 mm. (Gráfica 6).

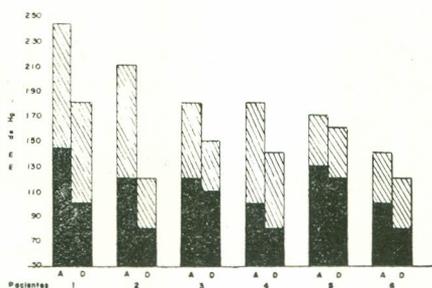
El sodio en sangre varió después del tratamiento (Gráfica 11) entre 145 y 121 mEq/L. con un promedio de 137 mEq/L. 5 pacientes tuvieron un sodio inferior a su control.

GRAFICA 6
ACCION SOBRE T. A. EN HIPERTENSOS

(NINGUNA EN NORMOTENSOS)

▨ T. SISTOLICA

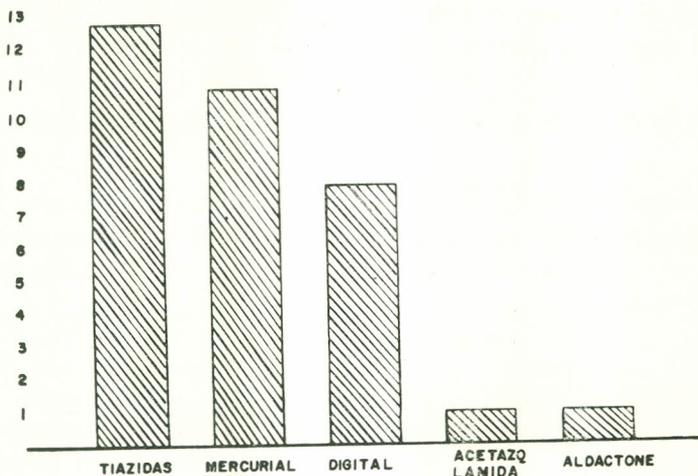
■ T. DIASTOLICA



GRAFICA 7

TRATAMIENTOS PREVIOS
INEFECTIVOS

Nº. de pacientes

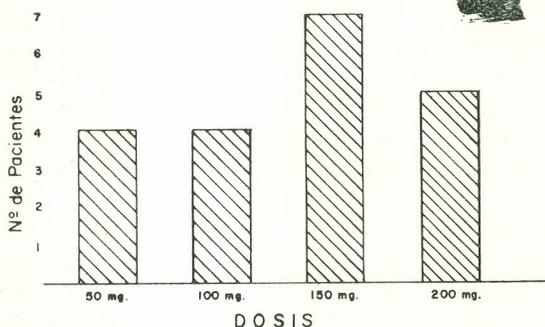


El potasio (Gráfica 9) varió entre 3.4 y 5.9 mEq/L. con un promedio de 4.6 mEq/L.

3 pacientes tuvieron un potasio inferior al control. Solamente un paciente con 3.4 mEq/L. de Potasio presentó síntomas y signos de hipopotasemia, requiriendo tratamiento.

Dos pacientes (casos 2 y 3) presentaron accidente psicótico agudo, uno de los cuales se interpretó como depleción aguda de sodio, regresó a su normalidad con regimen clorurado. El otro paciente murió de endocarditis bacteriana.

GRAFICA 8
DOSIS REQUERIDAS



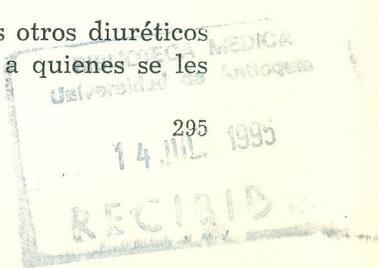
El cloro solamente se dosificó en 5 pacientes. Tuvo un promedio de 107 mEq/L.

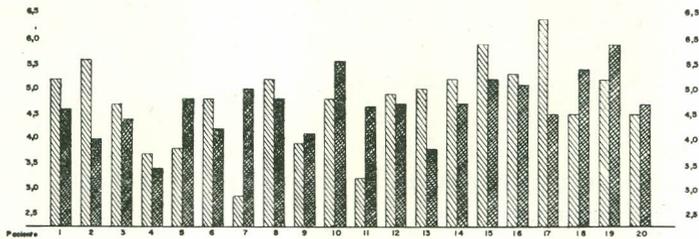
La reserva alcalina (Gráfica 10) varió entre 13.2 y 27.6 con un promedio de 22.50.

El sodio en orina de 48 horas (Gráfica 4) varió entre 110 y 1.000. Todos los pacientes en quienes se dosificó la Natriuria, tuvieron una eliminación de sodio doble de su control. Los tres pacientes que no tuvieron natriuria significativa estaban con una restricción total de sodio. Los pacientes que más eliminaron sodio (casos 2, 18 y 16) no se les restringió el sodio.

La eliminación de potasio en orina de 48 horas varió entre 50 y 300 mEq/L. con promedio de 113 mEq/L. Ocho pacientes duplicaron su eliminación de potasio.

Todos los pacientes que no habían respondido a los otros diuréticos respondieron con el Acido Etacrínico. Cinco pacientes a quienes se les





suministró Tiazida o Mercuriales después de suspendido el Acido Etacrínico, respondieron a estos diuréticos. (Gráfica 12).

Algunos de estos pacientes habían sido resistentes a estas drogas.

Las dosis que variaron entre 50 y 200 mgs. con un promedio de 150 grs. al cabo de los 8 a 14 días de terapéutica continuada era ineficaz, por lo cual nos tocó suspenderla y cambiarla por otro diurético.

Los únicos efectos secundarios indeseables que tuvimos fueron los de dos accidentes psicóticos, uno de los cuales regresó.

Discusión.

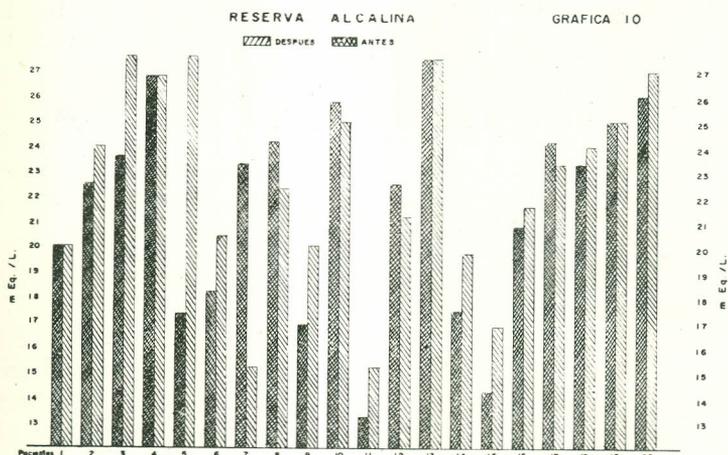
Los resultados obtenidos después del tratamiento con Acido etacrínico están de acuerdo con los de otros autores. Desde el punto de vista clínico, todos nuestros pacientes mejoraron de su edema e insuficiencia cardíaca congestiva. Los 5 pacientes que figuran con edema después del tratamiento eran grado I, según nuestra clasificación que equivale a mínimo.

Solamente dos pacientes no respondieron al tratamiento: uno con carcinomatosis y el otro con síndrome nefrótico. El promedio de descenso de peso en nuestros pacientes es significativo, si tenemos en cuenta el promedio de 8 kilos entre antes y después del tratamiento. Todos descendieron su peso, a excepción del caso N° 20.

Como se observa en la gráfica 3, todos tuvieron una respuesta diurética excelente.

Hacemos énfasis en que la diuresis no dependió de la dosis, ya que el paciente que tuvo más diuresis recibió 50 mgrs. de ácido etacrínico, mientras que la dosis para ambos grupos de más y de menos de 2.000 cc. de diuresis fue en promedio de 75 mgrs. Estamos de acuerdo con los demás autores (2, 3, 4, 5, 6) en que la máxima diuresis se obtiene

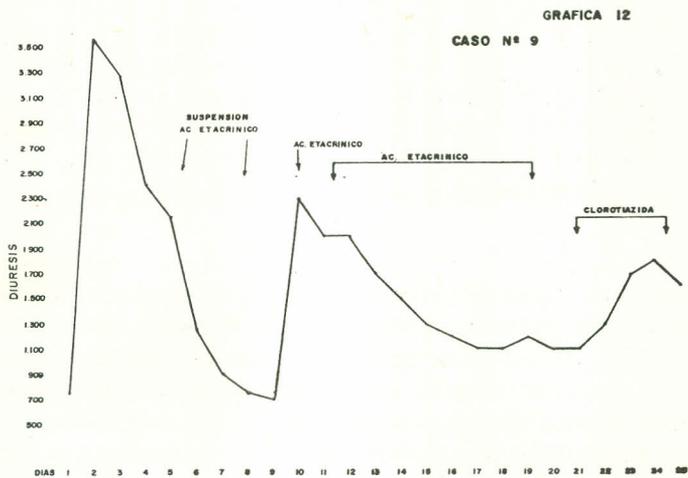
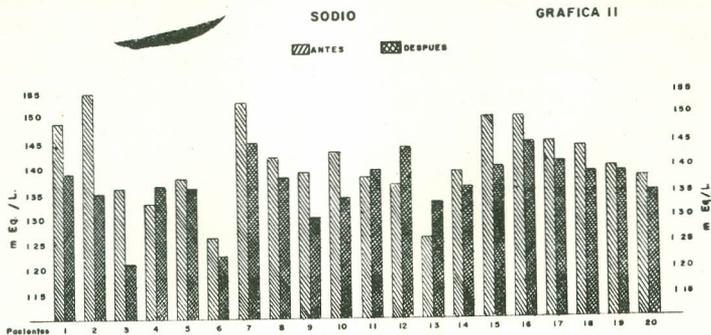
en los primeros días para luego seguir con una respuesta refractaria y una curva plana, como se observa en la gráfica 12, para de nuevo, después de algunos días, volver a obtener respuesta. Por esta razón recomendamos una terapia intermitente combinada con otros diuréticos en caso de necesidad.



Tuvimos una acción hipotensiva con Acido Etacrínico en todos nuestros pacientes hipertensos, lo cual está de acuerdo con algunas publicaciones (7, 8). No estamos de acuerdo con la publicación de Cannon (2) que no encontró ningún efecto en sus pacientes hipertensos. No tenemos experiencia con el uso prolongado del ácido etacrínico en los pacientes hipertensos, pero las conclusiones de Dollery y Conway (7, 8) es de que el ácido etacrínico tiene el mismo efecto que las tiazidas, de que combinado con éstas, o solo con dieta hiposódica es suficiente para reemplazar inclusive a los bloqueadores ganglionares.

Hubo una tendencia en nuestra casuística a la hiponatremia, la cual no es muy frecuente, según otros investigadores. Estamos de acuerdo en que la hiponatremia no invalida la respuesta al ácido etacrínico, ya que muchos de nuestros pacientes que la presentaron respondieron bien a la medicación. Un caso de hiponatremia que presentó accidente psicótico durante el tratamiento, regresó con dieta clorurada.

No encontramos con la frecuencia de otros trabajos los efectos hipokalémicos del ácido etacrínico (2, 7) y sus implicaciones clínicas, ya



que de los trece pacientes que tuvieron una moderada baja del potasio, solamente en uno hubo manifestaciones clínicas y electrocardiográficas que justificaron la terapia con potasio.

No pudimos comprobar la hipocloremia que tan frecuentemente se acompaña con la administración de Acido Etacrínico (2) ya que en los 5 pacientes en quienes se dosificó el C1 después del tratamiento no hubo diferencia significativa. Un hecho destacado durante la administración del ácido etacrínico es la frecuente alcalosis (por eliminación de Cl^- H⁺) no fue hallazgo significativo en nuestro estudio. No encontramos evidencia clínica de la precipitación de coma hepático en

nuestro paciente cirrótico por alcalosis como ha sido reportado por otros autores.

Nuestros pacientes confirman el efecto salurético del Acido Etacrínico ya que todos tuvieron una eliminación notoria de sodio por la orina. El efecto natriurético del Acido Etacrínico que es un derivado que-tónico no saturado del Acido Fenoxiacético, parece depender de la acción que tiene los receptores enzimáticos de los grupos sulfidrilos que tienen acción en la reabsorción del Sodio y del Cloro, en los túbulos proximal y distal y en el Asa de Henle del Nefrón (2, 10, 11, 12). Parece que no interfiere los sistemas de recambio iónico de sodio por K o H. Hacemos notar que la eliminación de sodio parece estar condicionada a la dieta, ya que los pacientes que más natriuria tuvieron estaban con dieta clorurada.

El aumento de la eliminación de potasio es un dato similar al de otros estudios, pero sin la frecuente complicación clínica de hipopotasemia. Parece que la hiperkaluria que presentan los pacientes después de la administración de Acido Etacrínico depende de una disminución de la reabsorción del túbulo proximal, aumento de su secreción (vía cambio por Ion Na.) en la porción distal del nefrón o más probablemente por acción de la aldosterona. (2)

Basados en todos los datos anteriores se ha concluido que los pacientes con Hiponatremia, hipokalemia, hipocloremia, acidosis respiratoria, alcalosis metabólica o insuficiencia renal, no son problema de contraindicación o resistencia para la terapia con Acido Etacrínico.

Los trece pacientes que antes estuvieron sometidos a tratamiento con otros diuréticos con los cuales no se había tenido ninguna respuesta, nos ponen de manifiesto la utilidad del Acido Etacrínico en los pacientes con edema refractario (6, 13). Algunos pacientes tienen una respuesta más potente que con los Mercuriales (Gráfica 12).

No encontramos efectos secundarios indeseables de vómito, diarreas, hiperazoemia transitoria, hipotensión marcada con manifestaciones clínicas. No hubo necesidad de suspender la droga en ningún paciente por efectos secundarios, ya que estos sólo se presentaron en dos pacientes que hicieron síndrome psicótico, uno de los cuales cedió a regimen clorurado como ya lo mencionamos.

Las dosis fueron variables y consideramos que cada paciente tiene una respuesta muy individual. La dosis promedio fue de 150 mgrs. (3 tabletas) y ningún paciente necesitó más de 200 mgrs. (4 tabletas). Recomendamos iniciar todos los casos con 50 mgrs. (2 tabletas). Si no es suficiente, al día siguiente se pueden administrar 150 mgrs. (3 table-

tas), hasta completar en caso necesario 200 mgrs, repartidos en 50 mgrs. cada 6 horas, ya que se ha comprobado que el ácido etacrínico comienza a actuar a los 15 minutos; tiene un pico de acción máximo a las 3 horas, y su acción desaparece a las 6 horas.

RESUMEN

Se presentaron 20 pacientes edematosos tratados con ácido etacrínico.

1. Todos los pacientes, menos uno, respondieron al tratamiento y sus síntomas y signos desaparecieron o disminuyeron considerablemente.
2. En cinco pacientes hipertensos disminuyó la presión arterial en forma significativa.
3. Todos los pacientes tuvieron una buena eliminación de sodio y potasio sin alteraciones hidroelectrolíticas importantes.
4. No hubo trastornos secundarios que justificaran la suspensión de la droga.
5. La dosis promedio fue de 150 mgrs., pero se hace énfasis en que cada paciente tiene una respuesta individual. Recomendamos una terapia intermitente y aún de suplencia con otros diuréticos.
6. El ácido etacrínico debe ser empleado en todos aquellos pacientes con edema refractorio, en los cuales toda terapia haya fracasado y en aquellos que requieran una terapia rápida y potente.

SYNOPSIS

A presentation of 20 edematous patents treated with Ethacrinic Acid was made.

1. All, but, of the patients responded to the treatment and the symptoms and signs disappeared or decreased considerably.
2. The blood pressure fell significantly in 5 hypertensive patients.
3. Sodium and potassium elimination occurred in all patients without import hydroelectrolytic alterations.
4. There were no significant side effect to justify the discontinuation of the medication.
5. The average dose was of 150 mgrs., but we must emphasize that each patient presents and individual reaction. We recommended

that intermittent therapy be used as well as replacement with other diuretics.

6. Ethacrynic Acid must be used in those patients with refractory edemas in which all other conventional diuretics have failed or that require a prompt and potent therapy.

REFERENCIAS

1. Baer, J. E.; Russon, H. F.; Michaelson, J. K., and Beyer, K. H.: A New class of diuretic-saluretic agents. The A,b-unsaturated ketone derivatives of aryloxyacetic acids, *Pharmacologist* 4: 158, 1962.
2. Cannon, P. J.; Heinemann, Henry O.; Stason, William B. and Laragh John H.: Ethacrynic Acid. Effectiveness and mode of diuretic action in man. *Circulation* 31: 5-18, 1965.
3. Schultz, E. M.; Cragoe, E. J.; Bicking, J. B.; Bolhofer, W. A. and Sprague, J. M.: Alpha-Beta unsaturated Ketone derivates of aryxalacetic acids, a new class of diuretics. *J. M. Pharm. Chem.* 5:660, 1962.
4. Cannon, P. J.; Ames, R. P. and Laragh J. H.: Methylenebutyryl phenoxyacetic acid. Novel and potent natriuretic and diuretic agent. *J. A. M. A.* 185:854, 1963.
5. Daley, D., and Evans, B.: Diuretic action of Ethacrynic acid in congestive heart failure. *Brit. M. J.* 2: 1169, 1963.
6. Maher, J. F., O'Connel, J. M. B., Setter, J. G., and Schreiner, G. E.: Effect of Ethacrynic Acid in refractory edema. *Clin. Res.* 12: 70, 1964.
7. Dollery, C. T., M. R. C. P., E. H. O. Parry, M. R. C. P., D. S. Young, MB: Diuretic and Hypotensive properties of Ethacrynic Acid: A comparison with hydrochlorothiazide. *Lancet* 1: 947-952, 1964.
8. James Conway and Gastone: Hypotensive effect of Ethacrynic Acid. *Circulation* 31, 661-664, 1965.
9. Cannon, P. J., Heinemann, O. H., Albert, M. S., Laragh, J. H. and Winters, R. W.: "Contraction" alkalosis following diuresis of edematous patients with Ethacrynic Acid. *Fed. Proc.* 23: 307, 1964.
10. Komorn, R. M. and Cafruny, E. J.: Ethacrynic Acid: Diuretic properties coupled to reaction with sulfhydryl groups of renal cells. *Science* 143: 133, 1964.
11. Goldberg, M., McCurdy, D. K., Foltz, E. L. and Bluemle, L. W., Jr.: Effects Ethacrynic Acid (A new saluretic agent) on renal diluting and concentrating mechanism: Evidence for site of action in the loop of Henle. *J. Clin. Invest.* 43: 201, 1964.
12. Early, L. E., and Friedler, R. M.: Renal tubular effects of Ethacrynic Acid. *J. Clin. Invest.* 43: 1495, 1964.
13. Foltz, E. L.: Preliminary Clinical Observations with an aryloxyacetic acid diuretic. *Fed. proc.* 22: 598, 1963.

MICROSCOPIA FLUORESCENTE

METODOS Y APLICACIONES EN MEDICINA

Dr. David Botero R. *

El presente artículo es una divulgación general sobre microscopia fluorescente, en relación con métodos de diagnóstico y de investigación, aplicables en medicina y biología. Lo expuesto es un resumen bibliográfico tomado de publicaciones sobre el tema, así como derivado de las experiencias y conocimientos adquiridos en un curso que sobre Inmunofluorescencia, realizó en 1965, la Organización Mundial de la Salud, en Copenhague.

Desde el punto de vista físico, puede decirse que la fluorescencia pertenece a un grupo de fenómenos naturales descritos como luminiscencia, en los cuales una substancia emite rayos luminosos, durante o después de recibir un estímulo físico o químico. Este estímulo puede ser el calor, como en las lámparas incandescentes, la electricidad como en los tubos de neón o los rayos luminosos, en cuyo caso constituye la llamada fotoluminiscencia. Esta puede ser de dos tipos: fosforescencia, como en los números de algunos relojes, en la que la capacidad de reemitir luz se prolonga por un período más o menos largo y fluorescencia cuando esta capacidad está limitada al tiempo del estímulo.

La fluorescencia existe naturalmente en algunas sustancias como fibras elásticas, vitaminas, etc., y en cantidades variables en tejidos

* Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

animales y vegetales; pero existe en su mayor grado en un grupo de colorantes fluorescentes o fluorocromos, los cuales pueden combinarse a tejidos u organismos, que por esta razón se tornan fluorescentes. Esos colorantes tienen también la gran propiedad de poderse unir a sustancias protéicas, tales como los anticuerpos, sin alterar sus propiedades físicas y químicas, lo que ha permitido utilizarlos en reacciones inmunológicas, en las cuales el componente final antígeno-anticuerpo será fluorescente.

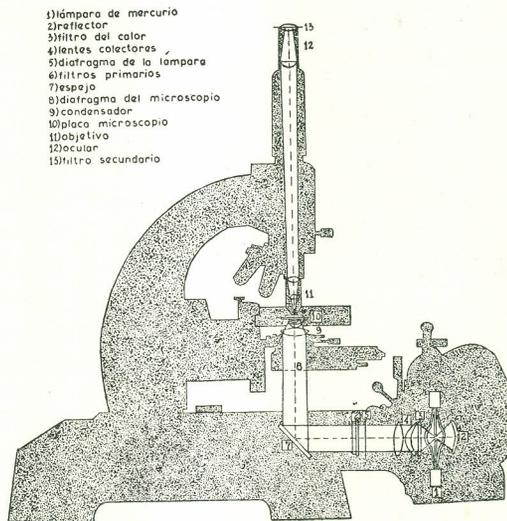
La luz necesaria para estimular la fluorescencia en las sustancias que tengan esta propiedad, debe ser muy intensa y de corta longitud de onda. Esto se logra con luz ultravioleta o con luz azul, las de menor longitud de onda en el espectro lumínico. Los cuerpos fluorescentes que son estimulados con esta luz, reemiten otros rayos luminosos de menor intensidad y de mayor longitud de onda, los que pueden ser observados por el ojo humano, usando algunas adaptaciones al microscopio corriente. (1-2).

EQUIPO PARA MICROSCOPIA FLUORESCENTE (1-2-3)

La luz azul o ultravioleta se obtiene de una lámpara de mercurio a presión, la cual genera rayos luminosos de gran intensidad a la vez que produce intenso calor. Esta lámpara posee un reflector con capa de aluminio así como lentes colectores de luz. Debe ir en una cabina metálica fuerte adaptada para eliminar el excesivo calor. La duración de la bombilla de mercurio es limitada a aproximadamente 100 a 200 horas de uso, tiempo que varía con el modelo. Su mayor gasto se origina en el momento del encendido. Las modificaciones al microscopio corrientes o las características del microscopio para fluorescencia, son esencialmente dos filtros de luz. El primero, colocado entre la lámpara y el objeto que se observa, tiene por función dejar pasar los rayos luminosos requeridos y detener los que no son efectivos para originar la fluorescencia. Este grupo de filtros, que se llama primarios, permiten utilizar luz ultravioleta, luz azul o ambas, según las necesidades. Puede estar adaptado también de filtros que detienen el exceso de calor. El segundo filtro o grupo de filtros, llamados secundarios, están colocados entre el objeto fluorescente y el ojo. Tienen por función detener la luz que ha pasado por fuera de los objetos que se desean observar. Esta luz que es excesiva, impide muchas veces la observación y es además peligrosa para el ojo humano. Con el uso de ese filtro secundario se evita lo mencionado y además es

posible dar un fondo oscuro al campo microscópico, lo cual hace más destacada la observación del objeto fluorescente. El equipo y el paso de los rayos fluorescentes pueden observarse en el esquema de la figura 1. Los equipos modernos de fluorescencia traen adaptada la

FIGURA N° 1
MICROSCOPIO FLUORESCENTE Y ESQUEMA DEL
PASO DE LOS RAYOS LUMINOSOS



lámpara de mercurio a un microscopio que tiene incorporados los sistemas de filtros. Si no se tiene este equipo, pueden adaptarse los filtros a un microscopio corriente y recibir la luz a través de un espejo aluminizado. En cualquiera de las dos circunstancias el procedimiento es igual y puede usarse el condensador corriente de luz clara. Con mejor provecho, en muchas ocasiones, se debe utilizar el condensador de campo oscuro y en algunos casos especiales el de contraste de fase. Cuando la intensidad fluorescente del objeto observado no es muy intensa, tal como sucede en la mayoría de las reacciones de inmunofluorescencia, el uso de microscopio monocular mejora la visibilidad en comparación con el binocular. También es necesario oscurecer parcialmente el ambiente y adaptar la visión a la oscuridad.

Los dos principales usos de la microscopia fluorescente son la tinción con colorantes fluorescentes y la inmunofluorescencia.

A - TINCIÓN CON COLORANTES FLUORESCENTES (4-5).

Este procedimiento se llama fluorescencia secundaria para diferenciarla de la primaria o natural que es la que presentan algunas sustancias espontáneamente. Este método es muy sencillo, pues consiste simplemente en mezclar el tejido u organismo que se desea colorear con una dilución apropiada del fluorocromo a un pH adecuado. Los fluorocromos más comúnmente usados son auramina O y anaranjado de acridina. Los usos de la coloración fluorescente son muy variados y pudieran agruparse así:

Microbiología y Parasitología:

La coloración de bacterias es sencilla y tiene en algunos casos, ventajas sobre los métodos conocidos. Es el caso del bacilo tuberculoso, en el cual la coloración fluorescente facilita su visualización, lo que ha hecho que algunos laboratorios especializados hayan reemplazado la clásica técnica de coloración de Ziehl-Neelsen por el método que nos ocupa. La tinción de hongos, espiroquetas, leishmanias, tripanosomas y otros protozoos ha sido bien estudiada y es recomendada por algunos autores.

Histología, histoquímica y citología:

En estos campos se ha usado recientemente la coloración fluorescente con mucho éxito. Ha servido para identificar sustancias tisulares, tales como enzimas, proteínas, etc., las cuales toman colores diferentes de acuerdo con el pH de la preparación. La coloración de células vivas se facilita mucho por este método, debido a la baja concentración del colorante usado, lo que permite mejores coloraciones vitales. Como complemento a la coloración de Papanicolau, se usa este método en el diagnóstico de células malignas. En la actualidad se está utilizando la tinción fluorescente con fines experimentales, para estudiar la localización y destino de células tumorales embolizadas, en animales con cáncer experimental.

Este método simple de tinción con colorantes fluorescentes, cuyos usos principales acabamos de describir, tiene el inconveniente de que las preparaciones no son permanentes. Esto sucede en todos los tipos de coloración fluorescente, en los cuales las preparaciones pierden progresivamente el color, lo que hace que no sean apropiadas para almacenamiento.

Fisiología y Patología experimental:

La distribución y el metabolismo de proteínas en el organismo de animales de experimentación se ha estudiado usando el método fluorescente, al inyectar por vía sanguínea o peritoneal, proteínas homólogas y heterólogas a las que se ha combinado un fluorocromo. El método es comparable al que usa sustancias radioactivas y presenta muchas ventajas sobre el que usa colorantes no fluorescentes, como Azul de Evans u otros. Se ha usado el método de inyección de proteínas fluorescentes para estudiar la circulación y la permeabilidad capilares, para detectar el daño hepático experimental causado por varias sustancias, para conocer la localización selectiva de hormonas, la acción celular de algunas enzimas, las características de la fagocitosis, etc. En todos estos casos el método se basa en la inyección de la sustancia protéica unida al colorante fluorescente y a la posterior identificación de la fluorescencia en los tejidos o células del animal de experimentación.

B - INMUNOFLORESCENCIA (1-5).

Los anticuerpos, como proteínas que son, pueden ser unidos a un fluorocromo, mezcla que al ponerse en contacto con un antígeno específico, produce fluorescencia observable al microscopio. Esta es la base de la inmunofluorescencia, la cual puede usarse con 2 fines: para identificar un antígeno usando anticuerpos conocidos o para identificar anticuerpos usando antígenos conocidos. El primer uso es el más frecuente y para su ejecución es necesario producir anticuerpos en animales. Esos anticuerpos se encuentran en las globulinas del suero las cuales deben separarse para ser mezcladas con el fluorocromo. Se tiene así el anticuerpo conocido que se mezcla a la preparación microscópica en estudio, la cual contiene el antígeno, para observar fluorescencia en caso positivo de especificidad antígeno-anticuerpo. Para el segundo uso el procedimiento consiste en usar antígenos conocidos para ser combinados con el nuevo suero, problema donde están los anticuerpos que se quieren investigar.

Preparación del anticuerpo fluorescente:

Para obtener el anticuerpo se usa el método de inyecciones repetidas de antígenos a animales apropiados, cuyo suero se obtiene

para ser probado por uno de los métodos comunes con el fin de comprobar si hay anticuerpos en cantidad aceptable. Las globulinas se obtienen por el método simple de precipitación con sulfato de amonio y a ellas se mezcla el fluorocromo. El más usado y el que más ventajas tiene es el isotiocianato de fluoresceína, aunque pueden usarse otros como la lisamina rodamina B 200 o el ácido dimetilaminonaftalenosulfónico (DANS). Estas globulinas ya conjugadas pueden ser almacenadas por largo tiempo a temperatura de 20 g.C y es conveniente agregar mertiolato al 1:10.000 para evitar contaminación bacteriana. Estos procedimientos pueden hacerse también con el antisero no conjugado. En cualesquiera de los dos casos, si se desea un almacenamiento por tiempo muy largo, puede usarse la liofilización.

En el procedimiento de conjugación del anticuerpo con el colorante debe seguirse una técnica cuidadosa, la cual incluye una etapa inicial de mezcla de suero con soluciones buffer, la mezcla lenta con el colorante y la diálisis posterior. Para evitar la presencia de fluorocromo libre, que dará reacciones inespecíficas, es necesario absorberlo con polvo de tejidos que no tengan el antígeno con el cual se está trabajando. Esta absorción puede hacerse también con algunas sustancias como resinas para intercambio iónico (Doweex 2-x4), carbón inactivo o filtrando el material a través de una columna de gel (Sephadex, DEAE, etc.), que permite la separación de las globulinas combinadas. Esta etapa de preparación de anticuerpos fluorescentes es la más difícil de todo el proceso de inmunofluorescencia, pero afortunadamente para laboratorios no especializados, existen ya productos comerciales que ofrecen un buen número de anticuerpos fluorescentes listos para usar.

Preparación del antígeno:

Los antígenos para estudios inmunofluorescentes están contenidos en tejidos, células o microorganismos. Deben ser colocados en una placa para microscopio y fijados de tal manera que se conserven en ella sin perder sus propiedades antigénicas. Los tejidos que se estudian en cortes histológicos deben, en cuanto sea posible, ser procesados en frío, usando las técnicas de fijación con nitrógeno líquido o hielo seco y un micrótopo refrigerado. Son también apropiados los cortes por congelación, aunque algunos antígenos bacterianos y virales se conservan muy bien en los cortes corrientes de parafina. La escogencia del método histológico depende del tejido que se estudia

y del tipo de antígeno que se investiga. Fuera de cortes histológicos se pueden usar extendidos, frotis, impresiones, cultivos de tejidos en una sola capa, etc., que contengan virus, bacterias, protozoos, hongos o cualquier otro antígeno. En cualesquiera de esos casos la preparación debe fijarse, para lo cual lo más recomendado es usar etanol o acetona, según el antígeno que se estudie.

Estas preparaciones fijadas pueden almacenarse a baja temperatura, si no se usan el mismo día de su preparación.

TECNICAS DE COLORACION INMUNOFLUORESCENTE (1 a 6).

a) **Método directo:** (Fig. 2). El antígeno debe dejarse secar en la placa para ser cubierto con unas gotas del anticuerpo fluorescente. Generalmente se deja actuar por 10 a 60 minutos a temperatura ambiente, aunque el proceso de coloración puede acelerarse a 37 g.C. Luego se lava muy bien por 5 a 20 minutos con solución buffer, haciendo agitación y varios cambios. Se acostumbra montar las placas con glicerina y sellarlas con barniz, si se desea conservarlas por algún tiempo. Para preparaciones de larga duración se han ensayado montajes permanentes con sustancias apropiadas, después de deshidratar la preparación. Este método directo es el más simple y se usa de antecuerpos conocidos. No es apropiado para el estudio de anticuerpos en suero, pues se requiere la conjugación con fluorocromo de todas las muestras de suero que se vayan a estudiar, lo cual sería largo y difícil.

b) **Método de inhibición:** (Fig. 3) Con este procedimiento se pueden estudiar sueros desconocidos sin necesidad de conjuguar cada uno de ellos. El método se basa en la característica inmunológica de que un antígeno saturado con su anticuerpo específico no toma más de éste. La primera etapa de la reacción consiste en mezclar el suero en estudio con un antígeno conocido para saturar este de anticuerpos. En una segunda etapa se le agrega anticuerpo fluorescente específico. Si en el suero problema existían anticuerpos correspondientes al antígeno usado, el segundo anticuerpo fluorescente agregado no se unirá al antígeno y será eliminado con el proceso de lavado comprendido en el procedimiento, de manera que la preparación no será fluorescente. En caso negativo los resultados serán inversos.

c) **Método indirecto:** (Fig. 4). Este método llamado también de la doble capa o del "sandwich", se basa en la capacidad que tienen los

INMUNOFLUORESCENCIA

FIGURA Nº 2

Método directo



FIGURA Nº 3

Método de inhibición

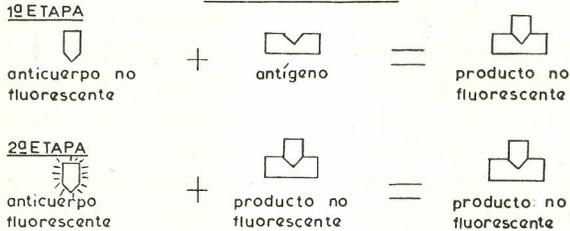


FIGURA Nº 4

Método indirecto



FIGURA Nº 5

Coloración del complemento



anticuerpos (globulinas) de actuar como antígenos y producir anticuerpos contra ellos. Con estas bases se han podido producir antiglobulinas humanas y antiglobulinas animales que actúan como anticuerpos. El procedimiento, en el caso de investigar anticuerpos en suero es el siguiente: se mezcla el suero en estudio con un antígeno conocido y se obtiene unión de ellos en caso de ser específicos. Esta primera etapa es igual a la mencionada en la técnica anterior de inhibición, y debe estar seguida de un buen lavado que elimine los anticuerpos no unidos al antígeno. La segunda etapa consiste en agregar antiglobulina fluorescente, la cual se unirá a la globulina (anticuerpo) que se ha adherido al antígeno, en caso de reacción positiva. Este método es más sensible que los anteriores y más frecuentemente usado por la gran ventaja de poder tener un elemento fluorescente único que servirá para estudiar cualquier número deseado de sueros. El método indirecto que hemos descrito se usa también para detectar antígenos usando anticuerpos conocidos. En este caso se sigue el mismo procedimiento de usar las antiglobulinas correspondientes a los anticuerpos usados, conjugándolas con el fluorocromo.

d) **Método de la coloración del complemento:** (Fig. 5). Este método es muy similar al anterior en su procedimiento y en sus usos, excepto que el componente fluorescente será una antiglobulina contra el animal que suministre el complemento, generalmente el cobayo, y que el procedimiento sólo puede usarse en los casos en que la reacción antígeno-anticuerpo fije el complemento.

Controles y pruebas de especificación:

Es de absoluta necesidad asegurarse que la coloración fluorescente aparecida corresponda a la reacción del antígeno con su anticuerpo específico. Ya habíamos mencionado sobre la autofluorescencia de algunos tejidos y organismos, lo cual hay que tenerlo en cuenta al valorar los resultados. Además hay que hacer una serie de controles de acuerdo al método utilizado, para asegurar la especificidad de la reacción. Estos controles están descritos en las publicaciones que detallan las técnicas de inmunofluorescencia.

USOS DE LA INMUNOFLUORESCENCIA.

1. **VIRUS Y RICKETSIAS (6-7).** Con fines experimentales se ha estudiado el crecimiento y la localización de estos organismos en el

interior de las células. Con este fin, o como medio diagnóstico, se prefiere el estudio de cortes histológicos fijados en acetona y preparados en frío. También se pueden estudiar cultivos de tejidos inoculados con virus o impresiones hechas de vísceras o de material infectado. Las aplicaciones principales en diagnóstico son las siguientes:

Influenza: Usando el método directo es posible detectar el virus de la influenza en frotis de moco nasal o en cortes de pulmón obtenidos post-mortem. En el primer caso la prueba es considerada de buena sensibilidad y con la gran ventaja de poderse realizar en pocas horas.

Neumonía atípica primaria: Usando como antígeno cortes por congelación de embriones infectados con el agente Eaton, probable virus productor de la enfermedad que nos ocupa, se ha podido utilizar el método indirecto para descubrir anticuerpos en pacientes que presenten esta neumonía.

Rabia: En impresiones de cerebro es posible identificar el virus antes de que se formen los corpúsculos de Negri. La prueba es más sensible que la identificación de estos corpúsculos y ofrece además la ventaja de poder identificar la infección en glándulas salivares, donde nunca se forman estos.

Herpes simple: Usando líquido de las vesículas se ha podido identificar el virus con gran seguridad y rapidez.

Poliomielitis: El método directo se ha utilizado para tipificar los virus aislados de materias fecales humanas y que infectaron células de cultivos de tejidos de riñón de mono. Este método es mucho más rápido que el de neutralización e igualmente seguro.

Tifo murino y epidémico: Los antígenos de las dos rickettsas se han podido diferenciar utilizando material de embriones de pollo inoculados con esos organismos. Este procedimiento tendría uso en el estudio epidemiológico de brotes de tifo.

Otros virus que se han estudiado con los métodos de inmunofluorescencia son los de Herpes zoster, Varicela, Psitacosis, etc. Los resultados prácticos en diagnóstico de enfermedades virales no son en realidad tan notorios como en otras enfermedades que mencionaremos posteriormente. Lo que si ha ampliado grandemente la inmunofluorescencia es el campo investigativo en virología, rama que todos los días adquiere mayor importancia en medicina. La sola rea-

ción con el cáncer es un tema inagotable, el cual ya se principia a estudiar por los métodos fluorescentes.

2. **BACTERIAS.** (1-2-8-9-10). Las pruebas de inmunofluorescencia tienen varias ventajas sobre los métodos inmunológicos corrientes. Ellas son: a) rapidez en la identificación de los gérmenes, pues puede estudiarse la muestra obtenida directamente del paciente o de un cultivo de enriquecimiento, evitando así los pasos para identificación en otros medios; b) posible identificación de gérmenes no viables, como sucede en pacientes que están en tratamientos o en muestras cuyos gérmenes han muerto por alguna causa; esto se debe a que los organismos en esas circunstancias no han perdido sus capacidades antigénicas, aunque su viabilidad no sea suficiente para reproducirse en cultivos; c) no es necesario obtener muestras puras, pues los organismos contaminantes no interfieren con la reacción; d) muy bueno para identificar bacterias en cortes de tejidos post-mortem; e) las muestras pueden ser enviadas o almacenadas en frotis secos.

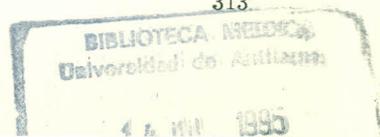
Los principales organismos bacterianos en los que se ha utilizado el método inmunofluorescente los comentamos a continuación.

Streptococo: La identificación de estreptococo hemolítico en frotis de garganta es posible en muy corto tiempo, mediante el uso de anticuerpos fluorescentes específicos. Se obtienen mejores resultados cuando el material se cultiva por dos horas en caldo nutritivo, del cual se hace la prueba. Las reacciones cruzadas del estreptococo A con otros grupos han dado origen a procedimientos que permiten su diferenciación bloqueando previamente estos con anticuerpos no fluorescentes.

Estafilococos: Estos organismos presentan en ocasiones reacción inespecífica con anticuerpos no homólogos, por lo cual las experiencias con este microorganismo no son muchas.

Neumococo: Este germen fue el primero que se observó por la técnica de anticuerpos fluorescentes, hecho registrado como histórico en el tema que nos ocupa. Correspondió al Dr. Alberto Coons, de la Facultad de Medicina de Harvard, el estudio publicado en 1942, en el cual demostró, por primera vez, la presencia de antígenos neumocócicos en tejidos, usando inmunofluorescencia.

Neisseria y Mima: Tanto el gonococo como el meningococo se han estudiado con éxito usando reacciones directas e indirectas.



La especificidad de los métodos, cuando se usan buenos controles y procesos de absorción o bloqueo de los organismos relacionados, han permitido la diferenciación de neisserias y mima. En países como Suecia, donde el procedimiento fluorescente ha sido establecido en los laboratorios de salud pública, las investigaciones de gonorrea son hechas con este procedimiento, con resultados mejores y más rápidos que los obtenidos con los métodos clásicos.

Brucella, Pasteurella, Malleomyces y Hemophilus: Este grupo de bacilos Gram negativos han sido bien estudiados tanto en animales como en casos humanos, con resultados muy satisfactorios.

Enteropatógenos: Los estudios con salmonellas han mostrado correlación de 96% con los cultivos convencionales, pero su uso no se ha difundido mucho. En infecciones por **Shigella** ha sido posible utilizar el método de inmunofluorescencia, para algunas especies, pero los estudios con sueros polivalentes no han sido muy exitosos.

Donde sí es de gran utilidad es en el diagnóstico de **E. coli**, enteropatógeno, en cuyo caso los antisueros específico permiten hacer un diagnóstico muy rápido en diarreas producidas por este organismo, sin necesidad de recurrir a cultivos, pues la prueba puede hacerse directamente de materias fecales.

Una nueva aplicación de los métodos fluorescentes, se ha estudiado recientemente, como un avance en salud pública y en bacteriología. Se trata del estudio de contaminantes del agua, recogidos en filtros a través de los cuales se ha hecho pasar la cantidad deseada del agua que se quiere estudiar. Los organismos retenidos en el filtro pueden colorearse directamente en él con anticuerpos fluorescentes y observarse en el microscopio, usando luz incidente. Una prueba confirmatoria, usada principalmente en contaminaciones del agua por enteropatógenos o **E. coli**, consiste en el mismo método, complementado de cultivo de los organismos recolectados, cultivo que se filtra luego para obtener una muestra más abundante y colorearla con antisueros fluorescentes. Esta técnica permite hacer una valoración cuantitativa de la contaminación del agua y puede realizarse muy rápidamente.

Antrax: Ha sido posible demostrar **Bacillus anthracis** en frotis y en cortes de tejidos de casos humanos de la enfermedad. También se han identificado anticuerpos partiendo de cepas conocidas del bacilo.

Báculo diftérico: Se utiliza la rápida coloración de frotis de garganta con antisueros fluorescentes, con magníficos resultados que permiten hacer un diagnóstico inmediato y establecer un tratamiento adecuado.

Se ha estudiado la técnica fluorescente en otras bacterias, como **Mycobacteria, Clostridia, Actinomyces**, etc.

3. ESPIROQUETAS - (1-2-11).

Treponema pallidum - Este organismo puede observarse en preparaciones obtenidas de chancros, u otras lesiones, usando anticuerpos fluorescentes, con una positividad comparable a la encontrada por el método de campo oscuro. El método fluorescente tiene la ventaja sobre éste, de que las muestras pueden ser enviadas o guardadas por largo tiempo, pues el material para examinar es seco. El mayor uso del método fluorescente en sífilis, consiste en la prueba indirecta para demostrar anticuerpos específicos en el suero humano, usando como antígeno la cepa Nichol, mantenida en testículo de conejos. Esta prueba es tan específica como la de inmovilización del treponema, aunque un poco menos sensible que ella. Se ha impuesto en muchos laboratorios especializados por ser más sencilla que la de inmovilización y mucha más específica que las pruebas con antígenos lipídicos. Esto no implica que estas últimas reacciones deban ser descartadas, pues están ya consagradas como muy sencillas y de gran utilidad.

Leptospiras: Se han estudiado varias leptospiras humanas y de animales en cortes de tejidos, para identificar la presencia del microorganismo, con buenos resultados. Hay reacción cruzada con algunas otras espiroquetas

Borrelias: Se han comparado las reacciones de **B. recurrentis** y **B. vici** con sueros específicos y con sueros de sifilíticos, comprobándose que no hay reacciones cruzadas con éstos.

4. PROTOZOOS (1-2-12 a 18-21).

Amibas. Ha sido posible diferenciar desde el punto de vista inmunológico la **Entamoeba histolytica**, de la llamada raza pequeña, que más bien debe considerarse como una especie diferente, con el nombre de **E. harimani**. Esto se ha hecho mediante la producción

de antisueros específicos, inyectando a conejos las amibas provenientes de cultivos. También se ha diferenciado de la **E. coli**, especie aceptada como no patógena, la cual tiene semejanzas morfológicas con **E. histolytica**.

Paremecium y Balantidium. Estos dos protozoos ciliados, el primero de vida libre y el segundo parásito de animales y humanos, se han estudiado usando el método directo, por combinación con anticuerpos fluorescentes.

Trichomonas. Se ha tratado de hacer la diferenciación de varias razas de **T. vaginalis**, así como la diferenciación de esta raza con otras especies. Las coloraciones inespecíficas de leucocitos y células descamadas en flujos producidos por **T. vaginalis** ha dificultado la aplicación del método fluorescente al diagnóstico de este parásito en pacientes.

Trypanosomas y Leishmanias: En la enfermedad del sueño se ha usado el método con fines diagnósticos así como también en la enfermedad de Chagas. En esta se ha estudiado el método indirecto comparado con la fijación del complemento. Los resultados han sido más específicos para la última reacción, pues la primera ha revelado un buen número de reacciones cruzadas entre **T. cruzi** y **T. rangeli**. En enfermos con Kala-azar se han identificado anticuerpos circulantes que reaccionan específicamente con antígeno constituido por leptomonas de **Leishmania donovani**. Se observaron reacciones cruzadas con sueros de pacientes que padecían leishmanias mucocutánea y con algunos casos de enfermedades infecciosas.

Plasmodium. Ha sido posible determinar anticuerpos por métodos inmunofluorescentes en poblaciones donde la malaria es hiperendémica. Se ha comprobado que la reacción a los **Plasmodium** humanos es cruzada con un buen número de **Plasmodium** de animales.

Toxoplasma. La dificultad de diferenciar este microorganismo en cortes histológicos con otros similares como **Histoplasma, Leishmania** o **Besnoitia**, ha sido en gran parte superada con el uso de la técnica fluorescente. El método directo usado en cortes corrientes o por congelación revela una coloración específica del parásito. También se ha usado el procedimiento fluorescente para determinar anticuerpos en suero, utilizando la prueba de inhibición, la cual ha dado resultados

comparables a los obtenidos en la prueba del colorante, con la ventaja sobre esta de que se trabaja con toxoplasmas muertos.

5. HELMINTOS (1-19-20-21).

Esquistosomas. El suero de pacientes con la enfermedad, marcado con el colorante fluorescente, produce un precipitado alrededor de huevos vivos de *Schistosoma*. Este precipitado circumoval fluorescente se ha usado como método diagnóstico. También se ha usado el método indirecto para estudiar anticuerpos, usando cercarias como antígeno.

Trichinella. Usando larvas como antígeno se produce fluorescencia en la zona oral e en las células del tracto intestinal, lo cual sugiere que el componente antigénico reside en alguna sustancia presente en el tubo alimenticio. Esta reacción ha sido posible obtenerla con suero de pacientes que padezcan la infección.

Filarias y Céstodos. También se ha usado el método de inmunofluorescencia en estudios relacionados con filarias, principalmente con *W. bancrofti* y con *O. volvulus*, aunque su uso en diagnóstico aún no se ha perfeccionado. En el grupo de los céstodos han dado buenos resultados las reacciones para quiste hidatídico, usando scólex como antígenos y para *Hymenolepis nana* en tejidos de animales infectados.

6. HONGOS (1-2).

La autofluorescencia de algunos hongos fue una dificultad inicial para la aplicación de las técnicas fluorescentes, lo cual ha venido eliminándose con el uso de mejores procedimientos y de anticuerpos más potentes.

Cándida: Se ha diferenciado la *C. albicans* de las otras especies no patógenas a excepción de *C. tropicalis*.

Histoplasma. En las formas tisulares de *H. capsulatum* se ha hecho coloración específica que ha permitido la diferenciación de este organismo con otros hongos. También se han hecho coloraciones en esputo y se han estudiado sueros de enfermos, los cuales no dan reacciones cruzadas con los de pacientes que sufran otras micosis sistémicas.

Cryptococcus neoformans: Las coloraciones en tejidos por métodos conocidos e inmunofluorescentes han dado resultados favorables al segundo, por lo cual se ha recomendado como procedimiento de rutina.

Blastomyces y Sporotrichum: Los antisueros para estos dos hongos se han usado con buenos resultados en estudios experimentales, aunque con reacciones cruzadas para otros hongos. Esta dificultad ha sido superada utilizando el método de absorción previa, con antígenos de los hongos que presentan esas reacciones.

7. ANTIGENOS Y ANTICUERPOS NATIVOS. (1-22-23-24).

Existen en el organismo animal un gran número de sustancias normales que son buenos antígenos y que se han podido identificar por el método de la inmunofluorescencia. Así, por ejemplo, algunas hormonas se han estudiado usando anticuerpos fluorescentes contra ellas, lo que ha permitido reconocer el punto de origen o su localización en las glándulas endocrinas. La hormona adrenocorticotropa se ha identificado en las células basófilas de la pituitaria, la insulina en las células beta de los islotes, la tiroglobulina en el coloide y en los acinos de esa glándula, etc. También algunas enzimas han podido ser localizadas, tales como la renina, catalasa, etc. Se han producido antisueros contra vísceras y órganos, los cuales reaccionan específicamente con ellos. Esto abre un gran campo de investigación en medicina, el cual ya se ha principiado a aplicar en tumores malignos, los cuales no toman la coloración fluorescente al ponerlos en contacto con el anticuerpo específico para el órgano donde está localizado el tumor. El caso opuesto también se ha estudiado, o sea el de usar anticuerpos contra tumores, los cuales se conjugan con ellos, pero no con la parte normal del órgano. Las células sanguíneas y los factores que determinan los grupos sanguíneos han sido origen de investigaciones por parte de varios autores, así como las globulinas anormales que aparecen en varias enfermedades. De estas merecen citarse especialmente las del mieloma, macroglobulinemia, el factor reumatoide y la proteína C-reactiva.

Se ha identificado gama globulina en las lesiones glomerulares de glomerulonefritis, nefrosis lipídica, lupus eritematoso diseminado, amiloidosis, etc. En estos casos la demostración de esa globulina nativa por métodos inmunofluorescentes ha hecho pensar que sea el resultado de la reacción inmunológica local. La reacción antígeno-an-

ticuerpo es la mejor teoría para explicar la acumulación de gama-globulina en la piel en casos de dermatitis por contacto, en el corazón en casos de fiebre reumática y en tejido sinovial de pacientes con artritis reumatoidea. Han sido descubiertas localizaciones de esa globulina en muchos otros órganos por el método que nos ocupa, lo cual ha abierto un amplio campo en el estudio de las enfermedades del colágeno y autoinmunes.

Por los métodos fluorescentes ha sido posible encontrar un gran número de auto-anticuerpos, o sea anticuerpos formados contra componentes propios del mismo individuo. Esto ha sido un avance en el estudio de varias enfermedades humanas. Las principales serán mencionadas a continuación:

Lupus eritematoso diseminado: En pacientes con esta enfermedad se ha encontrado un factor antinuclear de un modo constante, el cual se pone de manifiesto al combinar tejidos de animales o leucocitos como fuente de núcleos con suero del paciente, seguido de antiglobulina humana fluorescente. Esta reacción aunque constante en casos de lupus, se presenta también en pacientes con escleroderma, dermatomiositis, artritis reumatoidea, y en menores proporciones en casos de colitis ulcerativa, tiroiditis y miastenia gravis.

Enfermedades tiroideas: La relación de algunas enfermedades con la presencia de auto-anticuerpos, se ha estudiado por los métodos fluorescentes. En la enfermedad de Hashimoto se han encontrado anticuerpos contra extractos de tiroides humano. Ha sido posible reproducir en animales la tiroiditis crónica, en cuyo caso hay formación de anticuerpos contra el tiroides de ese animal. Estos y otros estudios han hecho pensar que la tiroiditis humana crónica sea una enfermedad autoinmune.

Enfermedad de Addison: Ha sido posible encontrar auto-anticuerpos contra células de la corteza suprarrenal en un buen número de casos de esta enfermedad. Experimentalmente se han inmunizado conejos con extractos de glándula suprarrenal, en los cuales se han hecho estudios relacionados con este tema.

Anemia perniciosa: El suero de pacientes con esta enfermedad contiene auto-anticuerpos para las células gástricas parietales, los cuales pueden ponerse de manifiesto con el método fluorescente. Este procedimiento promete ser muy efectivo en el diagnóstico de la enfermedad.

Colitis ulcerativa crónica: Las primeras investigaciones en este campo demostraron que el suero de niños con la mencionada enfermedad se combinaba con células del cólon cultivadas in vitro. Los resultados de estudios posteriores han permitido identificar anticuerpos en muchos casos, aunque el método aún no puede usarse con fines de diagnóstico.

Otras enfermedades: Un buen número de entidades patológicas, en las cuales hay factores de autoinmunidad, como mecanismo productor de ellas, se han identificado anticuerpos contra los órganos afectados o contra células determinadas. Así, por ejemplo, se ha localizado gama globulina en las células retículo-endoteliales del hígado, en casos de hepatitis y cirrosis post-necrótica. Ya habíamos mencionado la identificación de la misma globulina en el riñón de pacientes con enfermedades de este órgano. Algunos casos de infertilidad masculina se han atribuido a la presencia de auto-anticuerpos a los espermatozoides, los cuales se han identificado por métodos fluorescentes. En enfermedad reumática del corazón se ha comprobado la presencia de sustancias anti-corazón y se ha afianzado la teoría de que esta es la respuesta auto-inmune a los estreptococos, al demostrarse que el grupo A de estos organismos presenta reacción inmunológica cruzada con tejido cardíaco. En miastenia gravis se conocen auto-anticuerpos para los músculos, así como contra plaquetas y megacariocitos en púrpura trombocitopénica.

R E S U M E N :

Esta divulgación sobre microscopia fluorescente comprende una corta explicación sobre lo que es fluorescencia, una descripción del equipo necesario y la relación de las técnicas utilizadas tanto para la coloración fluorescente simple como para los procedimientos de inmunofluorescencia. Se hace una corta descripción de las aplicaciones del método en enfermedades producidas por virus y rickettsias, por bacterias, por espiroquetas, por protozoos, por helmintos, por hongos y por auto-anticuerpos. Al mencionar cada una de las enfermedades se resumen las principales investigaciones hechas y los usos del método fluorescente como diagnóstico. Este artículo no pretende ser una recopilación completa, ni dar detalles técnicos sobre los métodos. Se enumeran por eso unas referencias importantes, que deben ser consultadas para mayor información.

S Y N O P S I S :

This paper presents a short explanation on what fluorescence is, on the equipment necessary and the technics used, for the simple fluorescence staining and for immunofluorescence. There is a description of the uses of the method in diseases produced by viruses and rickettsia, bacteria, spirochetes, protozoa, helminths, fungi and auto-antibodies. When mentioned each of these diseases, there is a short summary on the investigations and the diagnostic uses of the fluorescent technics. This article is not a complete recopilation on the subject and do not contain a detailed description of the methods, which could be studied in the books and papers cited in the reference.

R E F E R E N C I A S :

- 1 Nairn, R. C. Fluorescent Protein Tracing. E. & S. Livingstone Ltd. Edinburgh and London. 2nd. ed. 1964.
- 2 Cherry, W B. Goldman, M. Carski, T. R. and Moody, M. O. Fluorescent antibodies technics, in the diagnosis of communicable diseases. U. S. Dept. of Health Education and Welfare, C. D. C. Atlanta Georgia, 1960.
- 3 Hoffman, E. Algunos conceptos sobre Microscopía Fluorescente. El médico de Colombia y Ecuador. **7**: 5-9, 1962.
- 4 Fluorescent antibody. Reagents and Procedures. Difco Laboratories, Detroit, Mich, U.S.A., 1964.
- 5 Hamperl, H. y Shummelfeder, N. Sobre la Microscopía por Fluorescencia. Symposium Ciba, **9**: 50-67, 1961
- 6 Liu, Chien. Fluorescent Antibody Technics. Diagnostic procedures for Viral and Rickettsial Diseases, 3rd. Ed. American Public Health Association, Inc. Chapter 4, pag. 177, 1964.
- 7 Hers, J. F. Ph. Fluorescent Antibody Technic in respiratory virus diseases. Am. Rev. Resp. Dis. **88**: N° 3, part, 2, 1963.
- 8 Danielson, D. The Demostration of *N. gonorrhoeae* with the aid of Fluorescent Antibodies. Acta derm. venerol **45**: 74-80, 1965.
- 9 Danielson, D. and Laurell, G. Detection of Enteropathogenic *Escherichia coli* in swedish Watercourse (the River Fyris) by means of Fluorescent Antibodies and by conventional Methods. Acta Poediatrica **53**: 49-54, 1964.
- 10 Danielson, D. A. Membrane filter Method for the demostration of bacteria by the Fluorescent Antibody Technic. 2. The application of the method for detection of small numbers of bacteria in water. Acta path. et microb. scandin **63**: 604-608, 1965.
- 11 Eng, J. Nielsen, A. A. and Wereide, K. A. Comparative Study of Fluorescent Treponemal Antibody (FTA) and Treponema pallidum immobilization Testint in 50 untreaters syphilitic patiens. Bull. World Health Org **28** 533-535, 1963.
- 12 Duxbury, A. and Sadun, E. Fluorescent Antibody Test for the Diagnosis of Visceral Leishmaniasis. Am. J. Trop. Med. & Hyg. **13**: 525-529. 1964.
- 13 Shaw, J. J. and Voller, A. The detection of circulating antibody to Kala-azar, by means of Immunofluorescent technics. Trans Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg. **58**: 349-56, 1964.
- 14 Ginaldo, O. La prueba indirecta de anticuerpos fluorescentes en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. Especificidad de la reacción entre

- los **T. cruzi** y **T. rangeli**. Tesis de grado. Bacteriología. U. Javeriana, Bogotá, 1965.
- 15 Goldman, M. Gordon, M. A. and Carver, R. K. Comparison of Titers of Dye and Fluorescence-inhibition test in the serological diagnosis of Toxoplasmosis. *Am. J. Cl. Path.* **37**: 541-550, 1962.
 - 16 Goldman, M. Cytochemical differentiation of **E. histolytica** and **E. coli** by means of fluorescent antibody. *Am J. Hyg* **58**: 318-319, 1953.
 - 17 Goldman, M., Gleason, N. N. and Carver, R. K. Antigenic analysis of **E. histolytica** by means of fluorescent antibody. III. Reactions of the Laredo Strain and five anti-histolytica sera. *Am. J. Trop. Med. & Hyg.* **11**: 341-346, 1962.
 - 18 Mc. Gregor et al. Immunofluorescence and immune response to hyperepidemic Malaria. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.* **59**: 395-414, 1965.
 - 19 Rivera de Sala, A et al. Detection of Circumoval Precipitins by the Fluorescent Antibody Technic. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.* **8**: 212-215, 1962.
 - 20 Magalhaes, A. Krupp, I. and Malek, E. Localization of Antigen and presence of Antibody in tissues of mice infected with **S. mansoni**, as indicated by fluorescent antibody technics. *Am. J. Trop. Med. & Hyg.* **14**: 84-99, 1965.
 - 21 Acevedo, J. F. & Rombert, P. C. O diagnostico pela imuno-fluorescencia. Sua aplicacao en Parasitologia. *Rev. Ins. Med. Trop. Sao Paulo* **6**: 35-45, 1964
 - 22 Falck, B. and Owman, C. A detailed methodological description of the fluorescence method for the cellular demonstration of biogenic monoamines. *Acta Universitatis Lundensis. Sectio II, N° 7*, 1965.
 - 23 Nairn, R. C. et al. A routine immunofluorescence method for detecting autoantibodies to thyroid colloid. *J. Clin. Path.* **15**: 594, 1962.
 - 24 Nairn, R. C. et al. Detection of autoantibodies to cytoplasmic and nuclear antigens in freeze-dried thyroid. *J. Clin. Path.* **16**: 281, 1963.

ENCUESTA SOBRE LA HISTOPLASMOSIS Y LA PARACOCCIDIOIDOMICOSIS
EN UN HOSPITAL DE TUBERCULOSOS +

Dres: *Alvaro Uribe Peláez* **
Luis Carlos Montoya Rodríguez ***
Angela Restrepo Moreno ****

Tanto la histoplasmosis como la paracoccidioidomicosis presentan localizaciones pulmonares con características muy similares a las de la tuberculosis, lo que ocasiona dificultades diagnósticas. Además, se ha demostrado que en los hospitales de tuberculosos localizados en zonas endémicas, son frecuentes los casos de histoplasmosis (1,2). Utilizando reacciones serológicas Furcolow, Schubert, Tash, Doto y Lynch (3) informan que un 7.5% de los pacientes recluidos en sanatorios norteamericanos, cubanos y canadienses poseen títulos de anticuerpos altos, sugestivos de infección con *H.capsulatum*. Conti-Díaz, Zarzábal y Mackinnon (4) estudian el problema en el Uruguay y Maekelt (5), en Venezuela. Ambos grupos informan pruebas serológicas positivas en 5-6% de los pacientes tuberculosos examinados. En cuanto a la paracoccidioidomicosis los datos son más escasos pero la presencia de la entidad en pacientes tuberculosos ha sido demostrada por Angulo (6). El número creciente de pacientes con estas entidades micóticas que viene siendo informado entre nosotros (7,8,9) promovió este estudio.

- * Estudio subvencionado por una ayuda de investigación del Instituto de Salud Pública de los Estados Unidos (NIH Grant A1-006637-01).
** Médico residente de Patología Clínica.
*** Médico Jefe del Hospital Sanatorio "La María".
**** Profesora Agregada del Dpto. de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín.

MATERIALES Y METODOS

Se realizó la encuesta en el Hospital Sanatorio "La María" de Medellín tomando la totalidad del personal existente, excepción hecha del grupo quirúrgico. Se examinaron 152 pacientes, 80 hombres y 72 mujeres cuyas edades oscilaban entre los 4 y los 72 años. Estos pacientes provenían de zonas diversas del Departamento y presentaban evidencia clínica de tuberculosis. Se obtuvieron, inicialmente, muestras de sangre de los pacientes y una semana después les fueron aplicados intradermorreacciones consistentes en la inyección de 0.1 ml. de histoplasmina(*) al 1/100 y de paracoccidioidina miceliar y levaduriforme (10 microg.) Las paracoccidioidinas fueron preparadas y estandarizadas por uno de nosotros (10). Las pruebas se aplicaron en zonas diversas de ambos antebrazos y fueron leídas a las 24 y 48 horas. Se tomó como reacción positiva mínima, una de 5 mm de inducción.

Las pruebas serológicas utilizadas fueron la fijación del complemento y la precipitación en gel de agar. Para ambos se usaron antígenos derivados de las fases miceliar y levaduriforme del *P.brasiliensis* y del *H.capsulatum*.

Los antígenos del *H.capsulatum* fueron preparados según las recomendaciones de Hill y Campbell (11) y las del *P.brasiliensis* con técnica nuestra (10). Para la fijación del complemento se utilizaron las técnicas descritas por Hill y Campbell (11) y para la precipitación en gel de agar, las de Heiner (12).

En 9 de los pacientes se verificaron cultivos e inoculaciones a partir de 3 muestras diferentes de esputos, siguiéndose las recomendaciones de Conti-Diaz et al. (4).

RESULTADOS

1. Pruebas intradérmicas

En los hombres se obtuvieron 18 pruebas positivas para la histoplasmina (22.50%) y 14 (17.50%) para las paracoccidioidinas. En las mujeres, 7 (9.77%) resultaron positivas para la histoplasmina y 3 (4.16%) para las paracoccidioidinas. (Véase cuadro N° 1).

Distribuyendo la positividad obtenida con las paracoccidioidinas se observó que la miceliar produjo en los hombres 11 reacciones y la

(*) Suministrada gentilmente por E. Lilly and Company, Indianápolis, Indiana.

levaduriforme 3. En las mujeres las 3 reacciones positivas fueron obtenidas con el antígeno miceliar. Las 3 pruebas fueron simultáneamente positivas en 9 casos, todos ellos del sexo masculino.

CUADRO N° 1

DISTRIBUCION DE LA SENSIBILIDAD CUTANEA A LA HISTOPLASMINA Y A LAS PARACOCCIDIODINAS EN LOS ENFERMOS DEL HOSPITAL SANATORIO "LA MARIA".

Sexo	Histoplasminas+ Total hechas	%Positividad	Paracoccidioidinas+ Total hechas	%Positividad
M	18 <hr/> 80	22.50	14 <hr/> 80	17.50
F	7 <hr/> 72	9.77	3 <hr/> 72	4.16
Totales	25 <hr/> 152	16.44	17 <hr/> 152	11.18

2. Reacciones serológicas

a) Precipitación en gel de agar: solamente uno de los sueros procesados reaccionó en forma positiva en esta prueba, observándose bandas de precipitado para la histoplasmina y la paracoccidioidina miceliar (caso N° 1).

b) Fijación del complemento

Los antígenos del *P.brasiliensis* no dieron reacciones positivas con ningún suero.

El antígeno miceliar del *H.capsulatum* produjo reacciones positivas en el suero de 13 pacientes y en 4 de ellos el antígeno levaduri-

forme dio igualmente positivo, siendo el porcentaje global de positividad equivalentes a 8.85. Tales reacciones fueron de títulos bajos, no superiores al 1/64.

En 9 de estos pacientes la historia clínico-radiológica y los análisis del laboratorio bacteriológico eran los de una tuberculosis típica siendo muy escasas las posibilidades de infección micótica sobreagregada. En los 4 pacientes restantes tales posibilidades eran menos remotas. A pesar de que los cultivos e inoculaciones tendientes al aislamiento del hongo dieron resultados negativos en estos pacientes, las historias clínicas, presentadas a continuación, permiten considerar la histoplasmosis como diagnóstico probable.

Paciente N° 1 — C.J.C.: Ingresó al hospital "La María" el 22 de abril de 1965, edad: 38 años. Natural de Santa Rosa de Viterbo. Residencia: Medellín hace 8 años. Oficio: vendedor de frutas y carretillero.

Los antecedentes hereditarios y personales conocidos carecen de importancia.

En la historia de ingreso se anota: Peso: 45 kilos. Talla: 1.60 mts. "Paciente dísneico, pálido, cianótico, en malas condiciones generales". Ignora el posible contacto para la infección tuberculosa. Refiere que su enfermedad se manifestó unos 4 meses antes con fiebre y asfixia. Asistió entonces a consulta a la entidad denominada Casa Mariana y de allí fue enviado a uno de los consultorios oficiales de Vías Respiratorias de la ciudad, donde inició tratamiento antituberculoso, pero en vista del pésimo estado general y socio-económico se remitió al hospital "La María". Al examen realizado allí se halló entre otras cosas "hepatomegalia de 4 dedos por debajo del reborde costal, dolorosa", "piel atrófica descamativa" en los miembros, "cor pulmonale crónico".

Hemograma en abril 29/65: Hematíes: 2.890.000. Hematocrito: 24, Hemoglobina: 7.2; P.V.C.: 86; P. Hb. C.: 25.5; P. C. Hb. C. 30. Leucocitos: 11.350. Neutrófilos. 69. Eosinófilos: 0. Basófilos: 0. Linfocitos: 31. Monocitos: 0. Eritrosedimentación: 1ª hora: 76 mm. 2ª hora: 102 mm.

Es de anotar que antes del ingreso al hospital la prueba de tuberculina fue positiva 11 mm. (23 de marzo/65).

La radiografía de tórax de marzo 23/65 revela: H.D.: lobitis superior excavada y con discretos nódulos que también se aprecian en el resto del parenquima; pequeñas calcificaciones en el campo inferior; adherencias diafragmáticas. H.I.: opacidad no homogénea, casi

generalizada, de apariencia fibroexudativa, con zona clara central sospechosa de cavidad; atracción cardiomediastinal.

En el hospital el tratamiento antituberculoso se realizó los cuatro primeros meses con isoniazida y estreptomycinina y luego se adicionó PAS; con tal tratamiento continúa en la actualidad (Noviembre del 65).

En el hospital se hizo baciloscopia de esputo al ingreso y fue negativa para bacilos ácido alcohol resistente, así como al mes siguiente. Hubo luego baciloscopia positiva en Junio y Agosto y de nuevo negativa en Septiembre y Octubre.

Hemograma en Octubre 29/65: Hematíes: 4.450.000. Hematocrito: 37. Hemoglobina: 11.3. P.V.C.: 84.5. P.Hb.C.: 25.5. P.C. Hb.C.: 30.5. Leucocitos: 11.100. Neutrófilos: 70. Eosinófilos: 4. Basófilos: 0. Linfocitos: 26. Mocositos: 0. Eritrosedimentacin: 1ª hora: 8mm. 2ª hora: 14 mm.

Hay apreciable mejoría del estado general y el peso es 10 kilos superior al del ingreso.

Uná radiografía pulmonar de Octubre 29/65 revela: H.D. imágenes fibrosas del lóbulo superior con cisuritis subyacente y paquipleuritis marginal en el mismo lobulo; pequeñas calcificaciones diseminadas, predominantes en la zona parahiliar; adherencias diafragmáticas. H.I.: velo generalizado, no homogéneo, de tipo fibroso, con zona clara central que podría corresponder a excavación; atracción cardiomediastinal; adherencias diafragmáticas. El estudio comparativo de esta radiografía con la de marzo revela modificación muy favorable, con absorción del elemento exudativo y mayor evidencia de las calcificaciones anotadas en el hemitórax derecho. (Fig. 1)

El examen general realizado en reciente fecha revela microadenopatía inguinal discreta, hígado que a la percusión rebasa un través de dedo el reborde costal y resistencia abdominal sin sensación dolorosa.

En Mayo de 1965 la prueba intradérmica con histoplasmina dio un resultado positivo con 22 mm. de induración. La paracoccidioidina miceliar fue de 8 mm. La reacción de fijación de complemento con antígeno miceliar del *H.capsulatum* fue positiva a un título de 1/8. La reacción de precipitación con el antígeno anterior y con el miceliar del *P.brasiliensis* produjo bandas de precipitado con ambas preparaciones.

Comentario: El paciente en referencia padece tuberculosis pulmonar, confirmada al laboratorio y con aspecto radiológico acorde con ella. Hay además al estudio radiológico imágenes compatibles con la

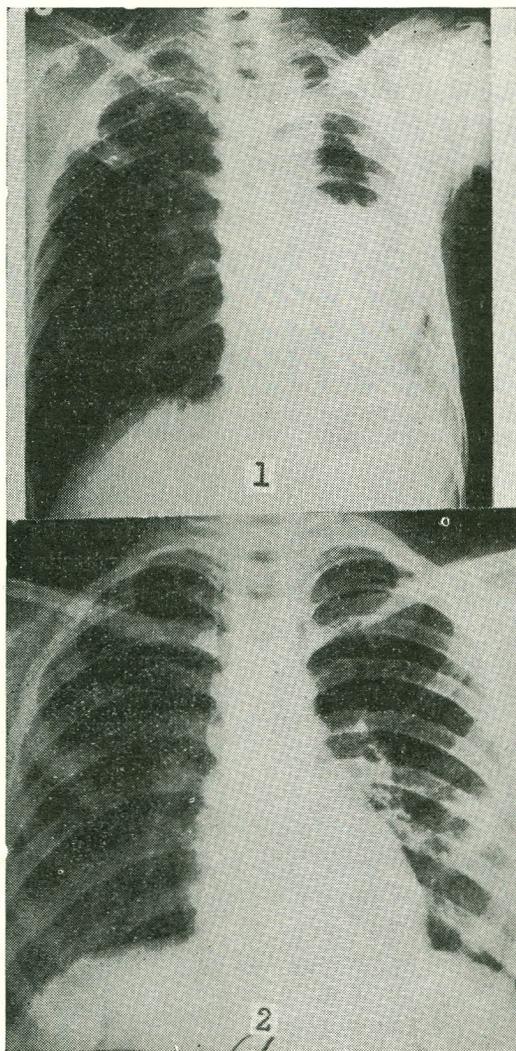


Fig. 1. Caso Nº 1 - H. D. imágenes fibrosas en lóbulo superior, cisuritis y paquipleuritis; calcificaciones pequeñas, diseminadas. Adherencias diafragmáticas. H. H. velo tipo fibrosos, zona clara central (excavación?), atracción cardiomediastinal. Adherencias diafragmáticas.

Fig. 2. Caso Nº 2 - H. D. calcificaciones hiliares y de base. H. I. imagen de aspecto cavitario, múltiples calcificaciones hiliares. Imagen hilar amplia.

presencia de histoplasmosis, sin que le sean exclusivas; son ellas las calcificaciones diseminadas y las adherencias diafragmáticas. A este último respecto podríamos citar a Banyal (13) quien refiriéndose a la histoplasmosis anota que "la pleura frecuentemente muestra un proceso reciente de organización fibropurulenta o densas adhesiones fibrosas". Hablan en igual sentido el examen clínico reciente, la prueba de histoplasmina y las reacciones serológicas, especialmente la de precipitación pues se considera que este tipo de anticuerpos existen sólo en formas activas más o menos iniciales.

Paciente N° 2 — C.H.: Ingresó al hospital "La María" el 27 de abril de 1964. Edad: 10 años. Natural de Altamira (A). Residencia: Medellín.

Los antecedentes hereditarios conocidos carecen de importancia. Antecedentes personales: bronquitis y sarampión. Ignora el contacto origen de la enfermedad pulmonar.

En la historia de ingreso consta que es paciente de 23 kilos de peso, 1.25 mts. de talla y que la enfermedad se manifestó 9 meses antes con fiebre vespéral vómito, diarrea, mucha tos y la persistencia de una "gripa pasmada". Por tal razón fue tratada para tuberculosis en uno de los Consultorios oficiales de Vías Respiratorias de Medellín y después enviada al hospital "La María". La prueba de tuberculina verificada en el Consultorio de Vías Respiratorias fue positiva flictenular.

Hemograma en Mayo 4/64: Hematíes: 3.160.000. Hematocrito: 26. Hemoglobina: 9.7. P.V. C.: 84. P. Hb. C.: 31. P.C. Hb. C.: 37.5. Leucocitos: 12.200. Neutrófilos: 72. Eosinófilos: 1. Basófilos: 0. Linfocitos: 27. Monocitos: 0. Eritrosedimentación: 1ª hora: 5 mm. 2ª hora: 8 mm. El examen coprológico mostró la presencia de algunos parásitos.

En la radiografía pulmonar de abril 10/64 se aprecia: H.D.: algunas calcificaciones hiliares y en la base. H.I.: imagen de aspecto cavitario de diámetro aproximado de 1 cm., en la unión del campo medio con el inferior; hilio un poco denso; calcificaciones hiliares.

En el hospital ha sido tratada para tuberculosis con isoniazida, estreptomycin, PAS, D-Cicloserina y etioniamida (treator) en diversas combinaciones, sin modificación sustancial en la imagen pulmonar, aunque con apreciable mejoría del estado general.

Hemograma en Octubre 29/65: Hematíes: 3.960.000, Hematocrito: 34. Hemoglobina: 11.3. P.V.C.: 88. P. Hb. C.: 29. P.C. Hb. C.: 33.

Leucocitos: 14.900. Neutrófilos: 48. Eosinófilos: 6. Basófilos: 0. Linfocitos: 46. Monocitos: 0. Eritrosedimentación: 1ª hora: 5 mm. 2ª hora: 10 mm.

La baciloscopia del esputo fue positiva para bacilos ácido alcohol resistentes "muy escaso" al ingreso. Se realizaron luego doce baciloscopias de esputo que fueron negativas. En el transcurso de ellas se hicieron dos lavados gástricos y uno bronquial, negativos todos al examen directo y positivos al cultivo los dos gástricos, uno de ellos señalado con dos cruces y el otro con tres. En el último mes de Septiembre se practicaron dos lavados bronquiales y uno gástrico que fueron negativos al examen directo y cuyo resultado de cultivos no se conoce aún. Sin embargo una baciloscopia de esputo en el mismo mes fue positiva. El esputo en Octubre, mes en que se hace esta anotación, fue negativo.

En la radiografía pulmonar de Octubre 29/65 se aprecia: H.D.: algunas calcificaciones hiliares y en la base. H.I.: imagen de aspecto cavitario en la unión del campo medio con el inferior, sin modificación de interés respecto a la que se anota en la radiografía de Abril; múltiples calcificaciones hiliares; imagen hilar amplia. (Fig. 2)

En el examen clínico verificado recientemente se halló microadenopatía cervical e inguinal y dolor a la presión en el hipocondrio izquierdo.

La prueba intradérmica para histoplasmina en Mayo de 1965 fue negativa. Igualmente negativa fue la paracoccidioidina. La reacción de fijación de complemento, con antígeno miceliar del *H.capsulatum* fue positivo al 1/32.

Comentario: Debemos aceptar en el presente caso el diagnóstico de tuberculosis pulmonar, pues baciloscopias positivas para bacilos ácido-alcohol-resistentes y el cultivo igualmente positivo de dos lavados gástricos así lo proclaman; a ello hay que agregar una prueba de tuberculina positiva y una imagen radiográfica pulmonar izquierda de aspecto cavitario sugestiva de lesión bacilar. Es sorprendente en verdad que el caso se haya revelado francamente resistente a un tratamiento sanatorial bien conducido que ha incluido no sólo las drogas de batalla corrientes sino otras tales como la D-Cicloserina y la etionamida para las cuales es remoto presumir una fuente de contagio constituida por micobacterias ya resistentes. Además, el paciente en referencia reúne en su estudio datos que autorizan para aceptar como muy probable la presencia de histoplasmosis, pues a la prueba serológica se agrega la existencia de adenopatías y una imagen radioló-

gica pulmonar con la presencia de calcificaciones, especialmente evidentes y numerosas en la zona hiliar izquierda, todo lo cual confirma la razón de la presunción diagnóstica.

Paciente N° 3 — N.O.: Ingresó al hospital "La María" el 7 de Diciembre de 1964. Edad: 9 años. Natural de Sopetrán. Residencia: Sopetrán.

En la historia se anota como antecedente personal "cólicos y cefaleas frecuentes". El padre es tuberculoso en tratamiento ambulatorio y una hermana lo es igualmente y se halla hospitalizada en "La María". Un año antes asistió a revisión por razón de contacto a uno de los Consultorios oficiales de Vas Respiratorias de Medellín y presentaba anorexia, gripes y astenia generalizada. La prueba de tuberculina verificada en Sopetrán fue positiva. En el Consultorio de Vías Respiratorias se le hizo tratamiento para tuberculosis y luego se envió a "La María".

El ingreso, según consta en la historia, era niña de 20 kilos de peso, 1.15 mts. de talla, "muy pálida, delgada, en regulares condiciones generales". "Abdomen globuloso. No se aprecia visceromegalia" Piel atrófica, descamativa en los miembros.

Hemograma en Enero de 1965: Hematíes: 3.860.000. Hematocrito: 33. Hemoglobina: 10.8. P.V. C.: 87. P.Hb. C.: 27. P. C. Tb. C.: 32. Leucocitos: 15.000. Neutrófilos: 69. Eosinófilos: 1. Basófilos: 0. Linfocitos: 30. Monocitos: 0. Eritrosedimentación: 1ª hora: 3mm. 2ª hora: 9 mm.

La radiografía pulmonar de Diciembre 18/64 revela: H.D.: imágenes infiltrativas con zona al parecer cavitaria infraclavicular y vello hiliar paramediastinal que podría corresponder a adenopatía. H.I.: calcificaciones hiliares.

El tratamiento para la afección pulmonar se ha realizado en el hospital con isoniazida, estreptomina y PAS y la evolución ha sido satisfactoria en cuanto al estado general y desde el punto de vista radiológico, especialmente por cuanto no se aprecia la imagen de aspecto cavitario.

Hemograma en Octubre 29/65: Hematíes: 3.870.000. Hematocrito: 34. Hemoglobina: 10.8. P.V. C.: 89. P.Hb. C.: 28. P.C. C.: 32. Leucocitos: 18.100. Neutrófilos: 60. Eosinófilos: 15. Basófilos: 0. Linfocitos: 25. Monocitos: 0. Eritrosedimentación: 1ª hora: 8 mm. 2ª hora: 20 mm.

Se han practicado en el hospital ocho baciloscopias de esputo y sólo la penúltima fue positiva para bacilos ácido-alcohol-resistentes.

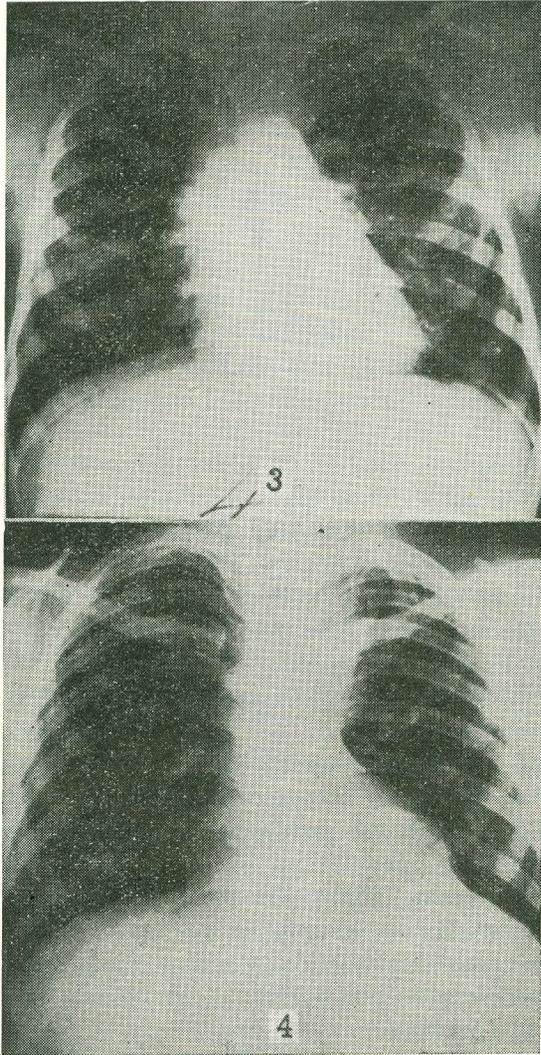


Fig. 3. Caso Nº 3 - H. D. calcificaciones hiliares y para-hiliares, zonas de fibrosis, densidad paramediastinal en zona hilar.
H. I. calcificaciones hiliares y de otras zonas.

Fig. 4. Caso Nº 4 - H. D. calcificaciones hiliares y para-hiliares. H. I. calcificaciones como en H. D. y zona de opacidad cleidohiliar tipo fibroso.

La radiografía pulmonar de Octubre 29/65 revela: H.D.: calcificaciones hiliares y parahiliares; dos zonas de tipo fibroso posiblemente residual; densidad paramediastinal en la zona hiliar, al parecer por adenopatía. H.I.: calcificaciones hiliares y en otras zonas. (Fig. 3)

Al examen clínico verificado en fecha reciente es de anotar un bazo percutible en extensión muy apreciable y la presencia de adenopatía cervical e inguinal derecha.

La prueba intradérmica para histoplasmina en Mayo de 1965 fue negativa. También lo fue la paracoccidioidina.

La reacción de fijación del complemento en antígenos del *H. capsulatum* fue positiva para el miceliar al 1/64 y para el levaduriforme al 1/8.

Comentario: Una baciloscopia positiva para bacilos ácido alcohol resistentes adicionada como en el presente caso con los factores tuberculina positiva, contacto familiar y aspecto radiológico pulmonar sugestivo, autoriza el diagnóstico de tuberculosis. Consideramos sin embargo, que la investigación de histoplasmosis ha suministrado datos suficientes para aceptar también su presencia. Tales la prueba serológica positiva a títulos altos, lo anotado en el examen clínico reciente y la radiografía pulmonar, donde a las calcificaciones se agrega la densidad en la zona hiliar derecha que bien podría corresponder a lo que Banyal (13), hablando de histoplasmosis, denomina "grosera adenopatía hiliar".

Paciente N° 4 — A.V.: Ingresó al hospital "La María" el 9 de Junio de 1964. Edad: 10 años. Natural y residente de Bolívar (A.) Se ignoran antecedentes hereditarios de importancia. En la historia se anotan como antecedentes personales sarampión y varicela. Consta igualmente en la historia: pésimas condiciones socio-económicas. Dos hermanos están en tratamiento para tuberculosis. La enfermedad que motivó el ingreso al hospital se manifestó aproximadamente un año antes con "fiebre persistente, pérdida de peso, sudoración nocturna, anorexia". Al examen se halló un niño de 21 kilos de peso, 1.19 mts. de talla, delgado, con estado general aparentemente aceptable.

Hemograma en Junio 12/64: hematíes: 3.580.000. Hematocrito: 31. Hemoglobina: 9.72. P.V.C.: 89. P.Hb. C.: 27.5. P.C. Hb. C.: 31. Leucocitos: 13.100. Neutrófilos: 84. Eosinófilos: 1. Basófilos: 0. Linfocitos: 15. Monocitos: 0. Eritrosedimentación: 1ª hora: 24 mm. 2ª hora: 50 mm. El examen coprológico revela presencia de algunos parásitos.

Fue enviado al hospital como caso 'de urgencia' por uno de los Consultorios oficiales de Vías Respiratorias y allí refieren que la prueba de tuberculina fue positiva (14 mm.)

En la radiografía pulmonar de Junio 10/64 se aprecia: H.D.: calcificaciones hiliares y parahiliares. H.I.: infiltrado del campo superior y calcificaciones parahiliares.

En el hospital fue tratada para su afección pulmonar con isoniazida y estreptomocina durante algunos meses y luego con dichos tuberculostáticos y PAS. También se suministró un esteroide durante varios días.

La evolución de la enfermedad se realizó en forma favorable con apreciable mejoría del estado general.

Hemograma en Octubre 29/65: Hematíes: 4.020.000. Hematocrito: 33. Hemoglobina: 11.3. P.V.C.: 83. P. Hb. C.: 28. P.C. Hb. C.: 34. Leucocitos: 11.100. Neutrófitos: 44. Eosinófilos: 12. Basófilos: 0. Linfocitos: 44. Monocitos: 0. Eritrosedimentación: 1ª hora: 3 mm. 2ª hora: 6 mm.

El primero de Septiembre de 1965 se le expidió certificado de que no presenta signos de tuberculosis pulmonar. Permaneció unos días más en el hospital mientras venían sus familiares a reclamarlo.

Es de anotar que todas las baciloscopias de esputo hechas en el hospital, 14 en total, fueron negativas para bacilos ácido alcohol resistentes, una de ellas en esputo recogido durante 4 días, otra en esputo de 3 días con microcultivo precoz y otra en esputo de 5 días también con microcultivo precoz. Además dos exámenes de jugo gástrico realizados en Junio último fueron negativos para bacilos ácido alcohol resistentes el examen directo y al cultivo.

La radiografía pulmonar de Octubre 29/65 revela: H.D.: calcificaciones hiliares y parahiliares. H.L.: calcificaciones hiliares, parahiliares y predominantes en la cima; zona de opacidad cleidohiliar de tipo fibroso residual. (Fig. 4)

En examen clínico reciente se halló bazo percutible en zona extensa y microadenopatía cervical e inguinal.

La prueba intradérmica para histoplasmina en Mayo de 1965 fue de 6 mm. de induración. De la misma magnitud fue la paracoccidiodina.

La reacción de fijación de complemento, demostró títulos para *Hicatulatum* al 1/8 con el antígeno miceliar y al 1/16 para el levaduriforme.

C U A D R O N^o 2
RESUMEN DE LOS HALLAZOS MAS IMPORTANTES EN PACIENTES TUBERCULOSOS CON
REACCIONES SEROLOGICAS POSITIVAS PARA HONGOS

Paciente	Proc.	Sexo	Edad	Evol. (meses)	Datos clin. sobresalien.	Datos radiol. sobresalientes	Pruebas cutanéas			Prueb.sero. F. del C.		H. caps Precip.		Cult. e Inocul. hongos
							mm. T	in. H	dur. P	M.	L.	M	L	
CJC	Sta. Rosa de Viterbo Residente Medellín	M	38	6	Hepatomegalia, cor-pulmonal. Baciloscopias de ingreso nega- tivas, luego dos positivas.	Lesión cavitaria izq. calcif. hemitórax derecho. Atracción cardiomiastinal izquierdo	11	22	8	1/8*	—	+	—	--
CH	Altamira Residente Medellín	F	10	21	Microadenopa- tías cervical e inguinal. Baci- loscopia. Ingreso: +; 12 bacilos- copias más ne- gativas y 1 po- sitiva. Cultivos: Positivos M. Tuberc. de jugo gástrico.	Imagen cavitaria en campo medio izq. calcificaciones bilaterales en zona hilar.	flic.	—	—	1/32	—	—	—	--
NO	Sopetrán	F	9	12	Esplenomegal. microadenop. cervical e inguinal; 7 ba- ciloscop. neg. y 1 pos.	Zonas fibrosas en hemitórax derecho; calcificaciones bilaterales.	7	—	—	1/64	1/8	—	—	--
AV	Bolívar	M	10	26	Microadenop. cervical e ing. Esplen. 14 baciloscop. neg. Cult. neg.	Zona densa residual en región cleido hi- liar izq. calcif. bilaterales.	14	6	6	1/32	1/16	—	—	--

*Título máximo. T. tuberculina. H. histoplasmina. P. paracoccidioidina.
M. antígeno miceliar. L. antígeno levaduriforme.

Comentario: El contacto familiar, la prueba de tuberculina positiva y el aspecto radiológico pulmonar al ingreso al hospital autorizan para aceptar el diagnóstico de tuberculosis como muy lógico aunque no se haya encontrado el bacilo de Koch. Sin embargo, también hallamos lógico aceptar la presencia de histoplasmosis, pues el conjunto constituido por el resultado de la intradermorreacción con histoplasmina, la prueba serológica, el examen clínico reciente y el aspecto radiológico pulmonar son perfectamente compatibles con tal afección micótica.

El cuadro N° 2 resume los hallazgos de este grupo.

DISCUSION

Los porcentajes globales de positividad a la histoplasmina (16.44) y a la paracoccidioidina (11.18) encontrados en este grupo se muestran más bajos que los anteriormente informados para Medellín (14, 15) a saber, 27,76% para la histoplasmina y 27,13% para la paracoccidioidina. Este dato es de interés puesto que señala que no hay reacción cruzada entre la tuberculosis y las micosis que aquí se consideran. No es tampoco sorprendente el hallar índices más bajos de sensibilidad cutánea puesto que el grupo examinado provenía de regiones muy diversas del Departamento, algunas consideradas como zonas endémicas y otras no.

La presencia de un 8.55% de reacciones positivas para los antígenos del *H.capsulatum* está dentro de los límites ya señalados para los Estados Unidos (3) y otros países suramericanos (4,5). Las pruebas serológicas en la histoplasmina son el mejor método para orientar el estudio clínico de posibles pacientes siempre y cuando hayan sido verificadas, como en este caso, previamente a la intradermorreacción. Está comprobado el aumento en los títulos de anticuerpos circulantes después de la aplicación de histoplasmina (15). Los resultados de las reacciones serológicas de este grupo permitieron concentrar la atención en 4 casos particulares, en los que aunque no se aisló *H.capsulatum* sí existían simultáneamente datos clínicos (visceromegalias, adenopatías) y signos radiológicos (calcificaciones múltiples y otros) sugestivos de tuberculosis e histoplasmosis. Es de anotar que en estudios realizados en Hospitales de Veteranos en los Estados Unidos (16) sólo se obtuvieron cultivos positivos para *H.capsulatum* a partir del 0.9% de los pacientes con serologías positivas, lo que demuestra lo difícil de su aislamiento.

Merecen mención los casos N° 1 y N° 4. En el primero de ellos la presencia de precipitinas señalaría una fase inicial de la infección micótica, la que hubiera podido controlarse por el alza en los títulos de los anticuerpos circulantes durante el transcurso de la enfermedad. Sin embargo, el haber efectuado intradermorreacción con histoplasmina con resultados positivos, hace que cualquier aumento en los anticuerpos sea atribuible a tal intradermorreacción y no a la infección misma.

El caso N° 4 en el cual se verificaron varias baciloscopias y cultivos sin lograr visualizar bacilos ácido-alcohol resistentes es aún más sugestivo de infección micótica. El hecho de que el paciente hubiese mejorado con tratamiento antituberculoso y reposo no excluye la histoplasmosis, pues esta puede ceder también con el mejoramiento de las condiciones generales del individuo. La procedencia de dicho paciente (Bolívar, A.) es un dato más en favor de micosis, pues ha sido ya demostrada la presencia de la entidad en tal zona (8).

Es interesante que 3 de los pacientes en consideración sean niños.

La ausencia de fijaciones del complemento positivas con los antígenos del *P.brasiliensis* es dato interesante que habla en favor de su especificidad. En trabajo que venimos realizando, los pacientes con paracoccidioidomiosis activa han reaccionado de manera intensa frente a tales preparaciones.

R E S U M E N

En el Hospital Sanatorio "La María" de Medellín se realizó un estudio tendiente a demostrar la presencia de histoplasmosis y paracoccidioidomiosis.

De 152 pacientes examinados, 25 (16.44%) fueron histoplasminopositivos y 17 (11.18%) paracoccidioidino-positivos. Las pruebas de fijación del complemento con antígenos derivados del *H.capsulatum* resultaron positivas en 13 casos (8.55%). Las efectuadas con antígenos del *P.brasiliensis* fueron todas negativas.

Entre los pacientes con serologías positivas, 4 tenían síntomas clínicos y signos radiológicos que hacían pensar en la presencia de la asociación tuberculosis-histoplasmosis.

S Y N O P S I S

A survey to determine to incidence of histoplasmosis and paracoccidioidomycosis was conducted in a tuberculosis sanatorium in Medellín. A total of 152 patients were studied. Skin tests with histoplasmin were positive in 25 persons (16.44%) and those with paracocci-

dioidins, in 17 (11.18%). Complement fixation tests were negative for *P.brasiliensis* in all the patients and positive for *H.capsulatum* in 13 patients (8.55%).

When these serologically positive patients were further examined, it was found that 4 of them had clinical symptoms and radiological signs of both tuberculosis and histoplasmosis. Although cultures and inoculations did not reveal the presence of *Hicapsulatum*, the possibility of mixed infection was seriously considered.

R E F E R E N C I A S

1. Furcolow, M.L. y Brasher C.A. Chronic progressive Cavitory pulmonary histoplasmosis as a problem in tuberculosis Sanatoriums. Am. Rev. Tuberc. 73: 609-619. 1956.
2. Walls, K., Furcolow, M.L. and P.H. Lehan. Histoplasmosis as a problem in tuberculosis Sanatoriums throughout the United States. J.Lab.Clin. Med. 51: 266-270. 1958.
3. Furcolow, M.L.; Schubert, J; Tosh, F.E. Doto I.L. y H.J. Lynch. Serologic evidence of histoplasmosis in Sanatoriums in the U.S.J. Am. Med. As. 180. 109-114. 1962.
4. Conti Diaz, I.A.: Yarzabal, L.A. y J.E. Mackinnon. Encuesta sobre Histoplasmosis en un Hospital de Tuberculosos del Uruguay. An. Fac. Med. Montevideo 48: 361-366. 1963.
5. Maekelt, G.A. Instalación de un Departamento especializado para el diagnóstico inmunológico de las micosis. Resumen de los trabajos realizados. Mycopath et Mycol. Appli. 13:77-98. 1961.
6. Angulo Ortega, A. Las micosis bronco-pulmonares en el Departamento de Anatomía Patológica del Instituto Nacional de Tuberculosis. Rev. Tisiol. y Neumonol. Caracas 1: 101-115, 1956.
7. Robledo Villegas, M. y Restrepo Moreno A. Histoplasmosis. Antioquia Med. 14: 335-351, 1964.
8. Posada González, H. Histoplasmosis en Bolívar (Ant.) Antioquia Med. 15. 199-210, 1965.
9. Borrero Ramírez, J.: Restrepo Moreno, A. y Robledo Villegas M. Blastomycosis Suramericana de forma pulmonar. Antioquia. Med. 15:503-516, 1965.
10. Restrepo Moreno, A. Biochemical and skin-reactive substances isolated for *P.brasiliensis*. Ph.D. Thesis. Tulane University. 1964.
11. Hill, G.B. y Campbell C.C. A further evaluation of histoplasmin and yeast phase antigens of *H.capsulatum* in the complement fixation test. J. Lab. Clin. Med. 48: 225-263, 1956.
12. Heiner, D.C. Diagnosis of histoplasmosis using precipitating reactions in agar gel — Pediatrics 22: 616-627. 1958.
13. Banyal, A.L. Enfermedades del tórax (no tuberculosas). Capítulo 5, Pag. 242-248, Editorial Bibliográfica - Argentina, Buenos Aires, 1956.
14. Posada Posada, D.A.; Posada González, H. y Restrepo Moreno A. Contribución al estudio de la histoplasmosis en Colombia. Antioquia Med. 12: 69-80, 1962.
15. Restrepo Moreno, A. y Uribe Peláez A. Sensibilidad a los extractos de *P.brasiliensis* en población colombiana. Ant. Med. 15:363-364, 1965.
17. Andrews, C.E.; Campbell, C.C. et al. Histoplasmosis Cooperative study. I Frequency of Histoplasmosis among adult hospitalized males. Am. Rev. Resp. Dis. 84: 663-668, 1961

AGRADECIMIENTOS:

Los autores desean manifestar su agradecimiento al personal de Hermanas del Hospital Sanatorio "La María" por su colaboración durante la realización de la encuesta.

II CONGRESO DE SALUD PUBLICA

II Congreso Colombiano de Salud Pública, auspiciado por la Sociedad Vallecaucana de Salud Pública. Se realizará en la ciudad de Cali, del 6 al 9 de septiembre de 1966.

Son objetivos de este Congreso:

1. Analizar algunos problemas nacionales en el campo de la Salud Pública y sus soluciones actuales y futuras.
2. Pripiciar la organización, las relaciones y el mutuo conocimiento de los participantes y agencias representadas.

Dr. Eduardo Lourido
Coordinador Comité de
Inscripción y Propaganda
Ap. Aéreo 6888 - Cali.