

ESCLEROSIS SISTEMICA PROGRESIVA (ESCLERODERMIA)

Investigación clínica sobre las alteraciones del metabolismo intermedio de triptófano y tirosina y la actividad terapéutica de drogas quelantes, corticotrofina y corticoides, relaxina y ácido lisérgico en 24 pacientes

ARTURO M. MOM, SALVADOR P. UBALTON e ISABEL DEGANO

Servicio de Dermatología, Policlínico de Lanús, Buenos Aires

La esclerodermia es probablemente la forma legítima de las enfermedades del colágeno desde que los tejidos más afectados son precisamente las fibras colágenas del conectivo¹. Fibrosis y esclerosis ocurren asociadas con grados variables de trastornos obliterantes en los vasos sanguíneos cutáneos y submucosos.

Desde el punto de vista clínico la esclerodermia (mejor llamada esclerosis sistémica progresiva desde que no sólo la piel está afectada) se presenta bajo dos formas fundamentales: localizada (o circunscrita) o sistémica o generalizada.

La esclerodermia *localizada* consiste en una o más placas cutáneas duras ("morfea") o atróficas, comúnmente distribuidas en bandas lineares o zoniformes y ocasionalmente asociadas con hemiatrofia. En esta forma los síntomas generales son raros pero es frecuente la existencia de artralgias y malestares musculares vagos y a veces se observa un grado inicial del síndrome de Raynaud. La esclerodermia lineal afecta la cara y los miembros superiores o inferiores en proporciones iguales.

La esclerodermia *generalizada* se observa bajo dos tipos clínicos: la forma progresiva y la acrosclerosis. La primera ataca principalmente el tronco mientras que la cara y las manos sólo se afectan tardíamente. La piel del tronco, brazos y muslos se endurece e infiltra progresivamente y aparecen signos precoces de trastornos pulmonares y gastrointestinales y la enfermedad evoluciona a la muerte en periodos de 1 mes a pocos años. El fenómeno de Raynaud es infrecuente. En la acrosclerosis predominan los síntomas del síndrome de Raynaud en las manos, con artralgias que preceden meses o

años a la esclerosis². La piel de los dedos, muñecas y antebrazos se endurece y apergamina y los movimientos se vuelven gradualmente limitados y dolorosos. La cara aparece como una máscara pálida amarillenta, a veces con telangiectasias y los surcos de la expresión facial se borran. La apretura de la boca se hace paulatinamente más difícil hasta que la infiltración sólo permite una mínima separación de los dientes, donde por radiografías dentales puede demostrarse un ensanchamiento de los espacios peridentarios. El progreso de la afección produce afinamiento de los dedos, pseudoartritis, ulceraciones necróticas de los pulpejos y aun gangrenas digitales.

El 10 % de los pacientes con acrosclerosis presenta disfagia como sintoma precoz de la pérdida de motilidad del esófago. Las capas musculares se atrofian o son reemplazadas por tejido fibroso. Con esto el peristaltismo se hace gradualmente dificultoso y puede llegar a perderse el mecanismo del cardias. La regurgitación gástrica produce esofagitis erosiva seguida por ulceración y atrofia cicatrizal del segmento esofágico inferior³.

En menor proporción se afectan el estómago, intestino delgado, colon y recto, con alteraciones reconocibles por el estudio radioscópico que revela la rigidez segmentaria y los contornos dentados del tracto gastrointestinal con distorsión y pérdida de la imagen normal de las vellosidades.

Los estudios radiográficos revelan con frecuencia fibrosis pulmonar leve, mediana o avanzada. La capacidad vital se reduce proporcionalmente al grado de fibrosis pero el volumen residual lo hace sólo en los pacientes con fibrosis pulmonar generalizada.

La saturación de oxígeno de la sangre arterial está disminuida según el grado de fibrosis y se torna más evidente después de períodos crecientes de ejercicio ¹.

En algunos casos se observa fibrosis intersticial del miocardio revelable en el electrocardiograma e interpretada como defectos menores de conducción (QRS de bajo voltaje y pequeñas anomalías de la onda T). Estos trastornos no son específicos pero tomados en conjunto con el cuadro clínico completo sugieren el ataque miocárdico del proceso esclerodérmico ^{5, 6}.

Las alteraciones renales glomerulares, vasculares y tubulares son frecuentes y similares a las del lupus eritematoso y a las de la hipertensión maligna y aún a las de la periarteritis nudosa (infartos corticales ⁷).

El ataque arteriolar aferente es frecuente en la esclerodermia y raro en el lupus eritematoso. Se observaron asas en alambre ("wire loops") pero no cuerpos hematolíticos ^{8, 9}.

El sistema endocrino sufre el impacto de la esclerosis sistémica progresiva especialmente en las glándulas tiroideas y paratiroides (que a menudo se encuentran atrofiadas en la autopsia). En nuestra serie de 24 pacientes, 6 tenían una cifra de yodo proteico plasmático por debajo de 4 gammas %, y metabolismo basal entre -10 y -18 %. Desde Leriche ¹⁰ es habitual relacionar la esclerodermia con trastornos paratiroides y del metabolismo cálcico. Este importante aspecto será extensamente discutido en el curso de este trabajo.

Las dos formas fundamentales de la esclerodermia no se excluyen mutuamente. Ejemplos clínicos de transformación progresiva de esclerodermia localizada en generalizada son frecuentes ¹¹ y en nuestro material 2 pacientes han convertido gradualmente la forma en banda (pierna y muslo) en acrosclerosis en períodos de algunos meses. En estos 2 casos coexistía un fenómeno de Raynaud incipiente con la forma localizada original.

El curso de la esclerosis sistémica progresiva puede ser de hasta 20 o más años y detenerse espontáneamente. Aunque no se conocen casos de curación anatómica, es común que el cese de la actividad coincida con la aparición de depósitos cálcicos (calcinosis cutis) en zonas esclerodérmicas ¹².

La enfermedad afecta mucho más a mujeres que a hombres, en proporción de 4 a 1 (en nuestra serie 20 a 1).

La causa de la esclerodermia es desconocida pero en los últimos años se han hecho progresos definidos en cuanto a sus probables mecanismos patogénicos y aún se han estudiado aspectos de la patología bioquímica de la enfermedad que permiten un enfoque más preciso del problema y avances positivos en la terapéutica. A estos aspectos se refiere específicamente el presente trabajo.

Objeto de este trabajo.

En 1950, Tuy y sus colaboradores ¹³ publicaron un estudio de balance metabólico, con especial referencia al nitrógeno, en enfermos de esclerodermia generalizada. Comprobaron las existencias de un balance nitrogenado negativo con una dieta normal de 1 g de proteínas por kilo de peso y el considerable beneficio clínico obtenido en 3 a 5 meses de dieta hiperproteica (2 a 5 g diarios por kilo de peso). Posteriormente, en 1957-58, Price y sus colaboradores ^{14, 15 y 16} estudiaron el metabolismo intermedio de L-triptófano y la acción de ciertas vitaminas (piridoxina, tiamina, riboflavina, niacina) como coenzimas del sistema enzimático de aquel aminoácido. Paralelamente el descubrimiento de la acción de cationes activadores de las enzimas, coenzimas y substratos (especialmente magnesio) actualizó el problema de las metaloenzimas y el papel que el bloqueo enzimático por antimetabólitos (por ejemplo isoniazida ¹⁴) y por otros cationes (calcio, zinc) desempeña en la producción de las lesiones bioquímicas del metabolismo del triptófano. La demostración por Cornbleet ¹⁷ y Kusunoki ¹⁸ del aumento del tenor de calcio hístico en las zonas esclerodérmicas y de la imbibición cálcica en los tejidos que sufren "atracción proteica" (empobrecimiento proteico hístico por síntesis orgánicas de proteínas de valor biológico inferior con escasos aminoácidos esenciales y aromáticos) ^{19, 20} se asocia a la disminución del magnesio sérico tisular ²¹, elemento esencial para la activación de las coenzimas del grupo piridoxal fosfato (B₆). Estos hallazgos (y el caso publicado por Kelen y Harris ²² de esclerodermia de calcinosis cutis) condujeron a la utilización de ciertos agentes "quelantes" o "secuestrantes" ^{11, 23, 24} como el edatamil sódico (EDTA, ácido etilendiaminotetracético disódico) para conseguir la eliminación del calcio hístico excesivo, su reemplazo por el magnesio activador de la piridoxina y con ello la normalización del metabolismo intermedio del triptófano y, por ende, de la resíntesis proteica.

Este aspecto, estudiado en 20 pacientes de esclerodermia constituye el *primer* objetivo de este trabajo.

En marzo de 1958, Nishimura y sus colaboradores ²⁵ estudiaron el metabolismo intermedio de fenilalanina y tirosina en las enfermedades del colágeno. Esos autores ^{25, 26} demostraron la existencia y eliminación urinaria constante (demostradas por cromatografía y espectrofotometría) de un metabolito intermedio anormal, el ácido 2,5-dihidroxi-fenilpirúvico.

La confirmación de estos estudios y la influencia de la corticotrofina (ACTH) y de los corticosteroides en el metabolismo intermedio de tirosina, estudiado en 12 pacientes de esclerodermia y 91 controles sanos y enfermos no esclerodérmicos ²⁷, constituye el *segundo* objetivo de este trabajo.

En 1959, Casten y Boucek²⁸ y Evans²⁹ estudiaron la acción de una nueva hormona, relaxina, polipéptido obtenido del cuerpo amarillo de la cerda preñada sobre el tejido elástico muy alterado histológica y funcionalmente en las esclerodermias.

El empleo de la relaxina y su influencia en las lesiones esclerodérmicas de 8 pacientes constituye el tercer objetivo de este trabajo.

Por último, las alteraciones del metabolismo de la serotonina observadas en el curso del primer punto de este estudio y la posibilidad de influir-lo por medio de drogas antiserotonina llevó al estudio de la acción del ácido lisérgico (LSD²⁵), del BOL 148, del adrenocromo y del SA-97 en 6 casos de esclerodermia. Esta parte del estudio que abre inesperadas posibilidades * constituye el cuarto y último objetivo de este trabajo.

PARTE I

ESTUDIO DE LAS ALTERACIONES DEL METABOLISMO INTERMEDIO DEL TRIPTOFANO EN LAS ESCLERODERMIAS Y SU MODIFICACION POR AGENTES QUELANTES Y COENZIMAS

Una serie de trabajos de Dalglish^{30, 31, 32, 33, 34}, Price y Brown^{14, 15, 16, 36} y Wachstein³⁷ ponen en esta vía de la investigación clínica y bioquímica. Los autores citados han estudiado las modificaciones que se producen en el metabolismo intermedio del triptófano en numerosas enfermedades, además de las collagenopatías.

Para ubicarse adecuadamente es necesario recordar los esquemas de la metabolización del triptófano y exponer las alteraciones del metabolismo intermedio normal actualmente estudiadas por aquellos autores y que se han tratado de confirmar y aplicar para el presente trabajo.

Metabolismo intermedio del triptófano.

El metabolismo intermedio del triptófano presenta una gran variedad de reacciones³⁸:

1) Este aminoácido puede formarse (aunque no está demostrado en el hombre) por condensación de indol y serina catalizada por una enzima que requiere piridoxal fosfato (vitamina B₆) como coenzima. A su vez, el triptófano por acción de la triptofanasa (que también requiere B₆) es degradado en indol y serina la que es deshidratada y desaminada para dar piruvato y amoníaco. Este aspecto tiene lugar fundamentalmente en el intestino y las bacterias del grupo coli actúan enzimáticamente.

* En colaboración con el equipo psiquiátrico de nuestro hospital, doctores M. Goldenberg, Kesselman, Romano y Roca.

2) Otra vía incluye la serotonina (5-hidroxitriptamina) y otras aminas relacionadas cuya importancia fisiológica es bien conocida. En este aspecto las enzimas renales e intestinales (bacterias) juegan un papel fundamental³⁹.

3) La tercera secuencia retiene el anillo indólico y modifica la cadena lateral para formar ácido 5-hidroxiindolacético (el 30 % de la serotonina sigue esta vía³⁹).

4) La cuarta vía incluye el clivaje oxidativo del anillo indólico y conduce a la formación de formilquinurenina y quinurerina y:

a) quinurenina-ácido quinurénico; quinurenina-acetilquinurenina; quinurenina-ácido antranílico-ácido o-aminohipúrico;

b) quinurenina-ácido 3-hidroxiantranílico-ácido nicotínico-piridona.

5) Finalmente la oxidación del triptófano puede ser continuada para los requerimientos de carbono y energía.

Los mecanismos de degradación son cumplidos por enzimas hepáticas, renales e intestinales, la mayor parte de las cuales requieren piridoxina como coenzima y probablemente también tiamina, riboflavina y ácido nicotínico (Dalglish^{30, 33}).

Este complejo metabolismo intermedio está alterado, especialmente en la vía de formación del ácido nicotínico, particularmente en las esclerodermias como se expondrá luego. Knox⁴⁰ ha demostrado en ratas la posibilidad de influir por medio de ACTH y cortisona y se verá más adelante cómo puede modificarse en el hombre por las mismas hormonas.

En 1954 Metzler y sus colaboradores⁴¹ han demostrado que la piridoxina probablemente funciona en forma de un complejo con un catión metálico y Jakoby y Bonner⁴² probaron que la quinurenina-sa contiene B₆ y es activada por iones magnésicos.

Por lo tanto, debe esperarse alguna alteración del metabolismo del triptófano por modificaciones: a) en el nivel hístico de triptófano; b) en las cantidades de las formas activas de niacina, piridoxina, riboflavina y tiamina; c) por factores que afectan la actividad del sistema hipofisiosuprarrenal, y d) por alteraciones en los niveles de cationes que participan en la activación o inactivación de la piridoxina. El gran número de factores involucrados hacen posible la existencia de varias combinaciones de alteraciones que pueden reflejarse en la calidad y cantidad de metabolitos intermedios del triptófano excretado en la orina.

El conocido trastorno del metabolismo inorgánico en las esclerodermias^{10, 17, 18} conduce al depósito de calcio y quizá de otros iones metálicos (¿zinc?) en los tejidos. Este metabolismo inorgánico anormal produciría una perturbación en la actividad de la piridoxina y por lo tanto en la utilización del triptófano.

Como se verá a continuación, los presentes estudios confirman los de Price y sus colaboradores¹⁵.

Los enfermos con esclerodermia tienen un trastorno metabólico del triptófano que puede ser normalizado por la acción "quelante" del ácido etilendiaminotetracético disódico y el sobreaporte de piridoxina y niacina.

Material y métodos.

Para el estudio de los metabolitos de triptófano en orina se han empleado métodos de cromatogra-

Selección de pacientes y controles

Se han utilizado 36 controles supuestos normales, 20 mujeres y 16 hombres de 2 meses a 74 años de edad y se incluyeron aquí 2 prematuros nacidos con menos de 2 kg de peso. Un segundo grupo de controles incluyó una serie de enfermedades consideradas no collagenósicas (45 pacientes en total): porfiria, pelagra, diabetes, hipotiroidismo, hipertiroidismo, enfermedad de Addison, enfermedad de

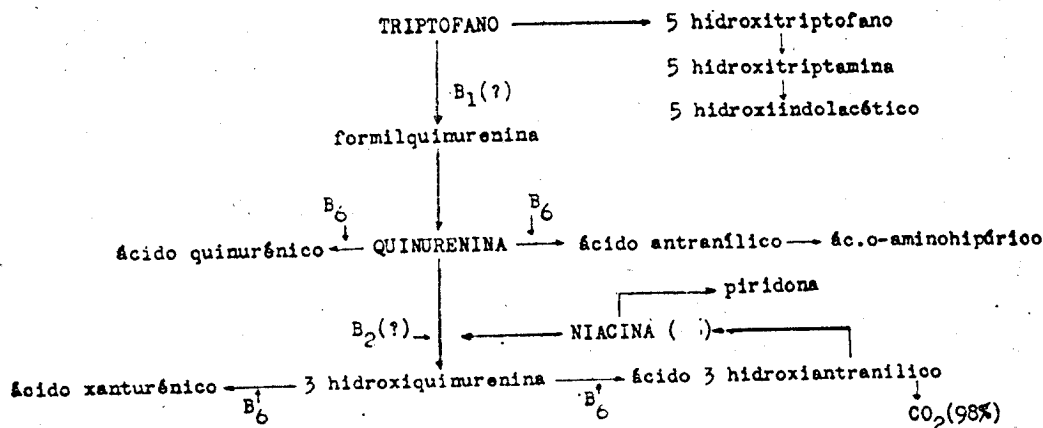


FIG. 1. — Metabolismo intermedio del triptófano (Dalglish³⁰; Price¹⁶; Mehler³⁸; Udenfriend³⁹).

fía y electroforesis en papel y espectrofotometría. Los procedimientos auxiliares que han permitido la tipificación de los trastornos patológicos son los histológicos, histoquímicos, las pruebas de función hepática y renal, la punción biopsia renal (atención de los doctores V. Miatello, L. Moledo, O. Morelli y G. Machado) y los proteinogramas plasmáticos.

Cushing, insuficiencia hipofisaria, síndrome de Sheehan, hepatitis virósica, nefrosis, tuberculosis pulmonar, colitis ulcerosa, leucemia linfóide crónica, sífilis secundaria, psoriasis, pénfigo y esquizofrenia.

El grupo de pacientes con collagenopatías comprende: esclerodermias (20 casos); lupus eritema-

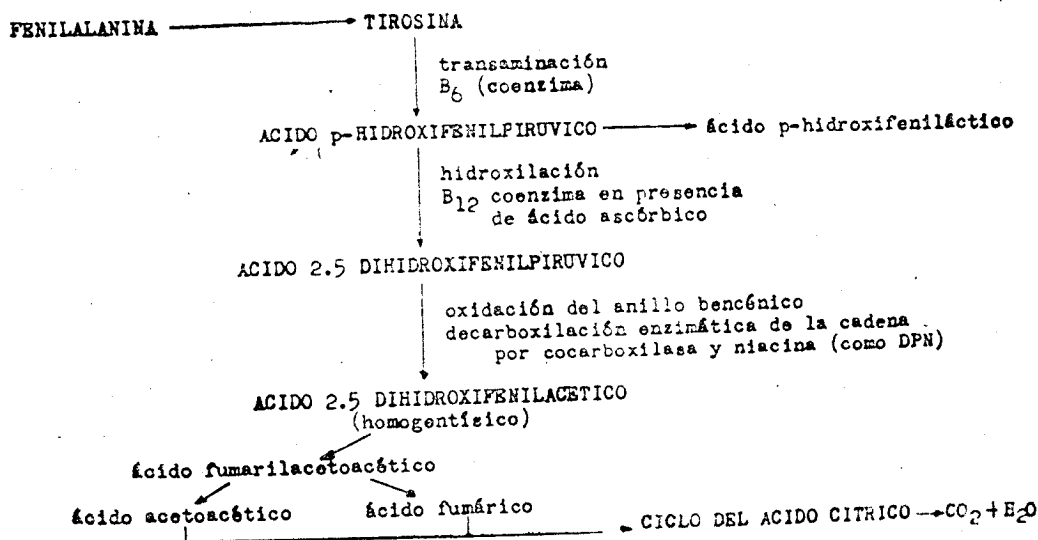


FIG. 2. — Metabolismo intermedio de fenilalanina y tirosina (Uchida⁴⁴; Nishimura²⁵; Knox⁴⁶).

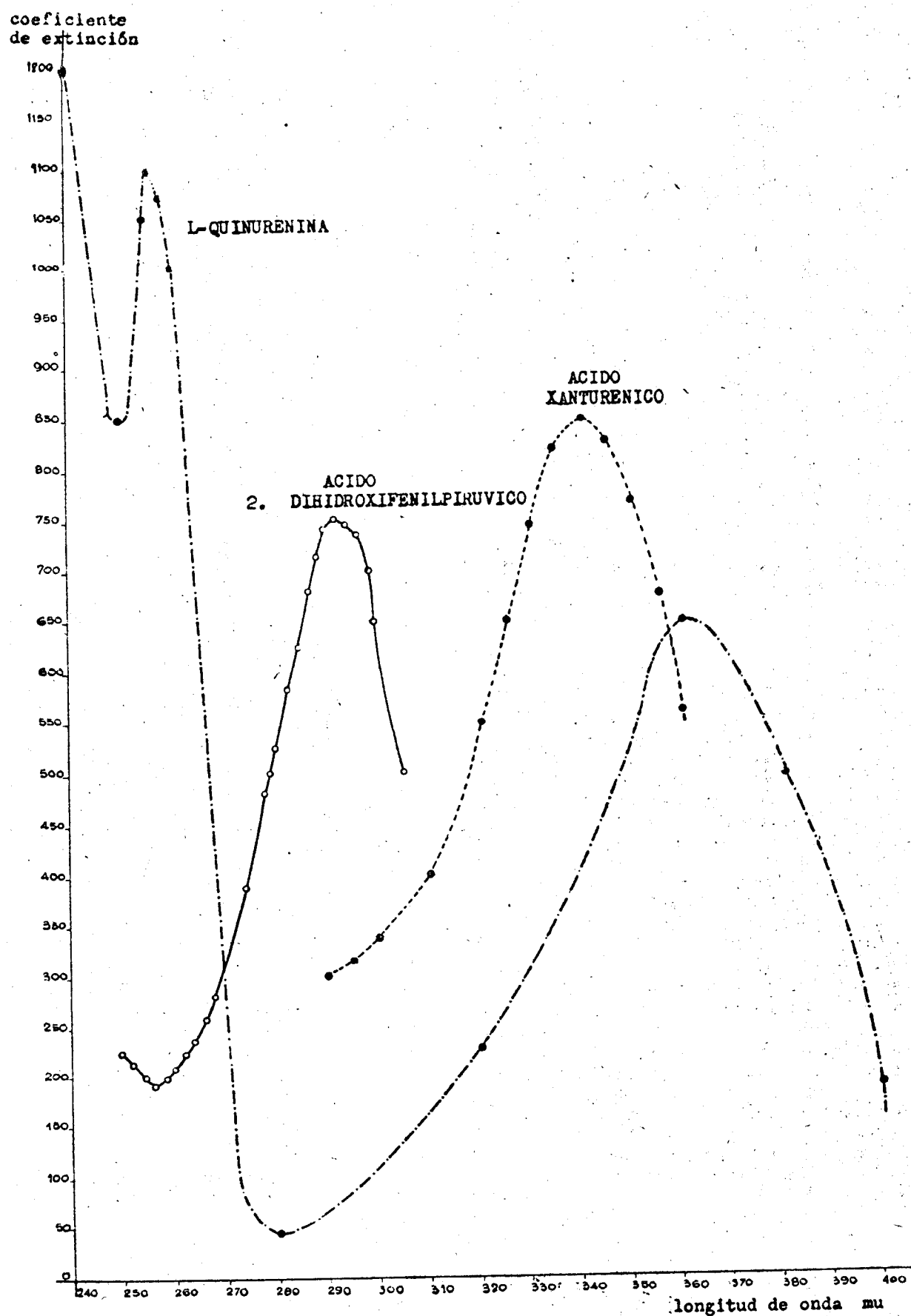


Fig. 3.—Curvas de absorción de la L-quinurenicina y de los ácidos xanturénico y 2,5-dihidroxifenilpirúvico (muestras sintéticas, espectrofotómetro Beckmann Du).

tosos sistémicos (10 casos) y dermatomiositis (3 casos).

Técnica y procedimiento del estudio

Todos estos pacientes fueron sometidos a una prueba de sobrecarga con 2 g de triptófano^{14, 15, 16}; durante el tiempo de la prueba los pacientes no recibieron medicamentos y en lo posible se procuró que hubieran estado sin tratamiento alguno desde varios días antes. A partir de la ingestión del triptófano se recolectó la orina durante 24 horas bajo toluol y las muestras fueron conservadas en la heladera a 4° C hasta el momento de la concentración; 200 cm³ de orina fueron concentrados a 1 cm³ en bomba de vacío, con alcohol octílico como antiemulgente, y la orina así concentrada fue tratada con alcohol 90° para precipitar electrolitos^{23, 26}. Una parte alícuota después de la centrifugación a 4.000 rpm fue extraída con éter para aislar el ácido 5-hidroxiindolacético y otra parte extraída con cloroformo para aislar el 3-hidroxiindolacético⁴³ y el resto fue extraído con un buffer fosfato pH 7.0. Estas 4 fracciones (pura, etérea, clorofórmica y buffer fosfato) fueron sembradas en papel de filtro para su análisis cromatográfico.

Para la *cromatografía en papel* se emplearon técnicas mono y bidimensionales ascendentes con papel Whatman 1 y 3 MM y Toyo 32*. Los solventes probados fueron numerosos pero se adoptó el n-butanol-ácido acético glacial-agua (4:1:1). En segunda dimensión se empleó el mismo solvente después de haber descartado el fenol, ácido fórmico, amoníaco, colidina, cloruro de potasio (Dalglish³⁴). Los papeles se equilibran durante 1 hora en la cámara y luego se corren durante 12 horas hasta que el nivel frontal alcance aproximadamente 24 cm. Una vez secados al aire o con ventilador se examinan para determinar su fluorescencia ultravioleta (General Electric Black Light 8 w y G.E.C., tipo 28, 125 w con emisión máxima 3660 y 2537 Angström respectivamente) y las manchas fluorescentes se marcan con lápiz de grafito y se determina su R_f, así como los de la mezcla de metabolitos sintéticos auténticos que se han corrido paralelamente en cada cromatograma. Los cromatogramas son cortados en tiras de 1 cm y sometidos a reacciones de coloración con: 1) ninhidrina 0,5 % en n-butanol, para detectar aminoácidos y metabolitos intermedios de triptófano y tirosina (grupos aminados); 2) con reactivo de Briggs (molibdato amónico a saturación en ácido clorhídrico 5N) para detectar grupos fenólicos (permite la caracterización de los derivados dihidroxilicos y especialmente el ácido 2,5 dihidroxifenilpirúvico y de su forma quinoides^{27, 28, 44}) y de derivados de 3 y 5-hidroxiquinurenina cuyos R_f se registran en los esquemas adjuntos); 3) reactivo de Ehrlich (p-dimetilamino-

benzaldehído 0,5 % en ácido clorhídrico 20 %) para detectar indoles, quinurenina y sus derivados hidroxilados y acetilados; 4) nitrato de plata al 2 %, amoniacal a saturación, para detectar compuestos -CO y -CHO; 5) diazorreacción (ácido sulfanílico-nitrito sódico) para detectar 3-hidroxiquinurenina y grupos N:N; 6) 2,4-fenilhidrazina 0,1 % en 2N HCl para detectar grupos -CO-CHO, y 7) cloruro férrico, 5 a 10 % en alcohol 50, para compuestos fenólicos^{25, 26}.

Se consideró conveniente realizar la separación de los metabolitos en segunda dimensión por cromatografía en papel como quedó expresado y/o por *electroforesis en papel*. Para esta última se emplean dos tipos de buffer: 1) piridina-ácido acético-agua (1:10:89) a pH 3.6, y 2) veronal-veronal sódico a pH 8.6 y una concentración iónica de 0.05 con 350 V., 25 mA durante 45 a 140 minutos bajo control ultravioleta. Los papeles son secados al aire y sometidos al análisis fluorescente y de coloración en forma similar a la anotada para la cromatografía.

En este trabajo se analizaron más de 300 orinas y aproximadamente 2500 cromatogramas.

Espectrofotometría. — El estudio espectrofotométrico de las manchas detectadas por fluorescencia y reacciones de coloración se efectuó eluyendo las mismas con un buffer fosfato pH 7.2 y estudiando luego la absorción de los metabolitos en el ultravioleta por medio de un espectrofotómetro Beckmann DU. Las curvas espectrofotométricas de los 3 principales metabolitos (quinurenina y ácidos xanturénico y 2,5-dihidroxifenilpirúvico) que corren muy próximas en cromatografía monodimensional y que pueden prestarse a confusión se registran en la figura 3. A menudo la concentración obtenida por elución no fue suficiente para su registro espectrofotométrico debiendo recurrirse a la concentración de grandes cantidades de orina.

Marcha de las experiencias clínicas y resultados.

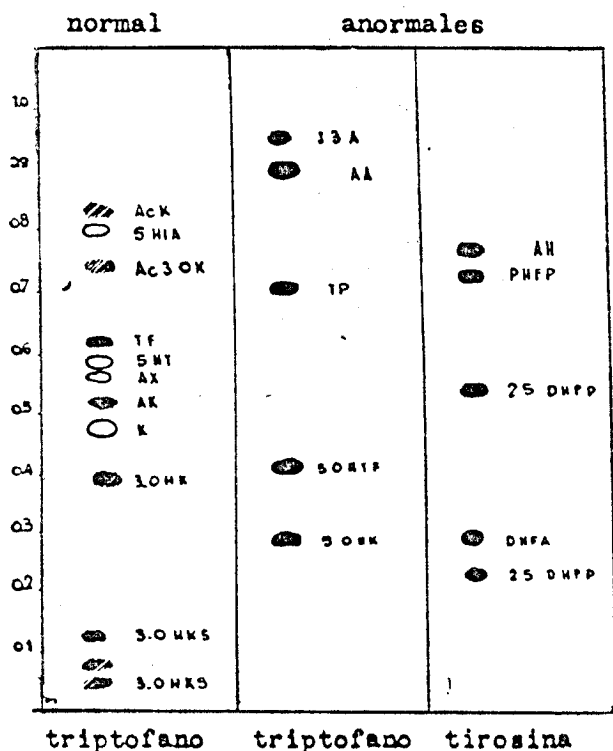
1) Cromatogramas urinarios normales

Establecer qué es un cromatograma urinario normal en relación con el metabolismo intermedio del triptófano fue el primer paso. Para ello se procedió a promediar los hallazgos obtenidos en los controles clínicamente normales. Además, se tomó como segundo grupo control el conjunto de pacientes con afecciones sin las características clínicas de las colagenopatías o afectados de diversas endocrinopatías (hipo e hipertiroidismo, enfermedad de Addison, insuficiencia hipofisaria y síndrome de Sheehan).

En las figuras quedan expresados con detalles los metabolitos que pueden considerarse como normales de los grupos citados. Puede decirse que, bajo las condiciones técnicas en que se desarrolló este trabajo, los cromatogramas normales y los "no colagenósicos" revelan: 1) pequeñas cantidades de quinurenina, 3-hidroxiquinurenina y ácidos xanturénico y quinurénico (después de la prueba de

* Suministrado por gentileza del profesor N. Nishimura, Wakayama, Medical College (Japón).

CROMATOGRAMAS URINARIOS DE METABOLITOS DE TRIPTOFANO Y TIROSINA



Cromatografía monodimensional ascendente. — Solvente: n-butanol, ácido acético, agua (4:1:1); papel Whatman 1, tiempo de desarrollo 10 horas. Caracterización por Rf, fluorescencia ultravioleta, desarrollo con ninhidrina, molibdato amónico (Briggs), p-dimetil aminobenzaldehído (Ehrlich), nitrato de plata amoniacal, diazorreacción, cloruro férrico, 2,4-fenilhidrazina y espectro de absorción en el ultravioleta (Beckmann DU). (Ver texto.)

AcK: acetilquinurenina
 5HIA: ácido 5-hidroxiindolacético
 Ac3OHK: acetil-3-hidroxiquinurenina
 TF: triptófano
 AX: ácido xanturénico
 AK: ácido quinurénico
 3OHK: 3-hidroxiquinurenina
 3OHKS: id. id. sulfato
 3OHKG: id. id. glucurónido
 13A: ácido indol 3-acetúrico
 AA: ácido antranílico
 TP: triptamina
 5HT: 5-hidroxitriptamina (serotonina)
 5OHTF: 5-hidroxitriptófano
 5OHK: 5-hidroxiquinurenina
 AH: ácido homogentísico
 PHFP: ácido p-hidroxifenilpirúvico
 2,5 DHFP: ácido 2,5-dihidroxifenilpirúvico
 DHFA: 3,4-dihidroxifenilalanina

sobrecarga de 2 g de L-triptófano); 2) trazas de acetilquinurenina y acetil-3-hidroxiquinurenina; 3) vestigios de triptófano y derivados sulfoconjugados y glucurónidos de 3-hidroxiquinurenina, y 4) con el reactivo de Ehrlich se obtuvieron manchas no fluorescentes correspondientes a 5-hidroxitriptamina y a los ácidos 5-hidroxiindolacético e indol-3-acético.

2) Cromatogramas y metabolitos anormales en las esclerodermias

El estudio cromatográfico urinario bajo carga de triptófano en los casos de collagenopatías reveló:

1. Cantidades anormalmente elevadas de los siguientes metabolitos del triptófano: a) quinurenina, 15 a 30 veces en esclerodermia y lupus eritematoso y en menor cantidad en dermatomiositis; b) 3-hidroxiquinurenina, 5 a 20 veces en esclerodermia y en menor proporción en lupus y dermatomiositis; c) ácido 5-hidroxiindolacético (en las 3 collagenopatías).

2. Aparición frecuente de: a) acetil y acetil 3-hidroxiquinurenina; b) 5-hidroxiquinurenina; c) ácido indolacetúrico.

3. Aparición ocasional de: a) hidroxitriptófano; b) ácido antranílico.

3) Acción y efecto de las drogas "quelantes" y de la piridoxina y niacina

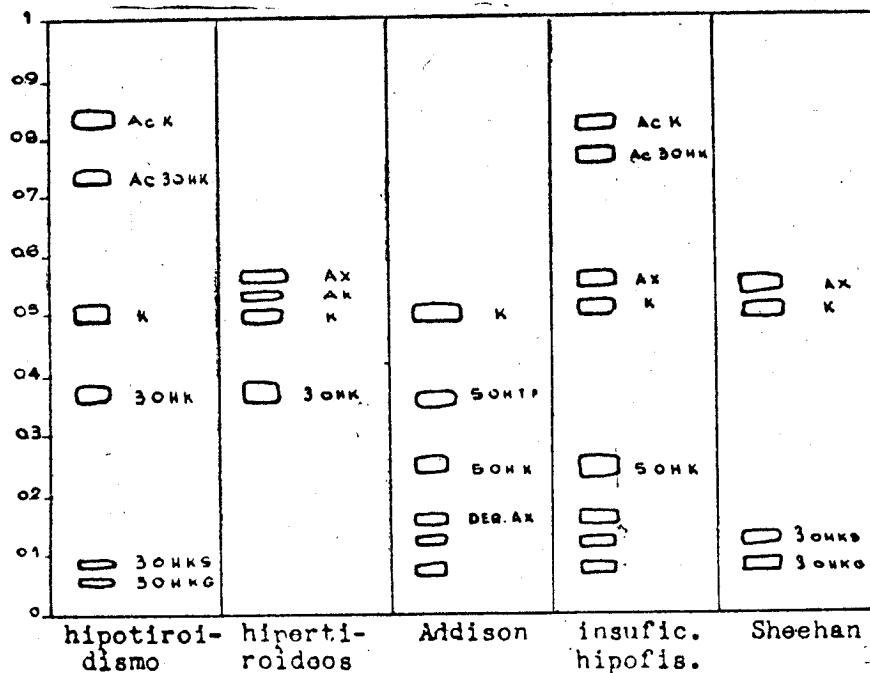
Los trabajos de Tui¹³, Klein y Harris²², Ruskavina²³ y Price¹⁵ así como la ya citada acumulación cálcica en los tejidos con "atrición proteica"^{13, 17, 18} nos llevaron al empleo de un agente "quelante" * para la eliminación del exceso de calcio acumulado y la normalización de la forma activa de la piridoxina. Una droga "quelante" o "secuestrante" ("chelating agent"⁴⁵) es un inactivador de iones metálicos con formación de un anillo interno en la molécula de tal manera que el ion se incorpora al anillo. Forman compuestos solubles con calcio y otros metales. La quelación del calcio iónico en el líquido extracelular produce una disminución del calcio sérico. La muerte puede ocurrir por la inyección intravenosa rápida, por síncope y convulsiones por la hipocalcemia que conduce a la tetania. La infusión intravenosa lenta (en 3 a 4 horas) permite reponer el calcio desde el esqueleto. El "quelato" cálcico formado se excreta rápidamente por la orina y produce un balance negativo de calcio y el empobrecimiento del calcio esquelético. Por vía intravenosa el 90 % del quelato se excreta en 6 horas por la orina; 1 g de EDTA "quela" 125 mg de calcio.

Durante el período de administración del EDTA (Endrate) (máximo 50 mg por kilo de peso en 500 cm³ de solución dextrosada isotónica, en infusión intravenosa lenta en 3 a 4 horas, diarias, 5 días por semana, durante 3 semanas) se añadieron 50 a 75 mg diarios intramusculares o intravenosos de piridoxina (Benadon) y en algunas experiencias, 250 a 500 mg diarios de ácido nicotínico por boca (Akotin).

Estas series fueron repetidas 1 ó 2 veces según el resultado clínico obtenido, con intervalos de 6 a 8 semanas. A lo largo de todo el período se procuró que los pacientes recibieran una dieta hiper-

* EDTA, edatamil disódico (Endrate, Abbott) fue la droga empleada en este trabajo, proporcionada por el Departamento Médico de Abbott Int., North Chicago.

METABOLITOS DE TRIPTOFANO EN ENDOCRINOPATIAS



Cromatografía monodimensional (n-butanol - ácido acético - agua 4:1:1)

AcK: acetilquinurenina
Ac 3 OHK: acetil 3-hidroxiquinurenina
K: quinurenina
3 OHK: 3-hidroxiquinurenina
3 OHKS: 3-hidroxiquinurenina sulfato

3 OHKG: 3-hidroxiquinurenina glucurónido
AX: ácido xanturénico
AK: ácido quinurénico
DER. AX: derivados del ácido xanturénico
5 OHK: 5-hidroxiquinurenina

proteica con no menos de 2 g de proteínas por kilo de peso (complementadas por caseinatos y lisados proteicos).

Se efectuaron determinaciones frecuentes de calcio, fósforo y fosfatasa alcalina séricos, protidogramas fraccionados, hemogramas, hepatogramas, transaminasas glutámica, oxalacética y pirúvica y análisis de orina diarios. Cada 5 a 7 días se efectuaron cargas de 2 g de triptófano y el estudio cromatográfico urinario antes, durante y después de la administración de EDTA con y sin piridoxina y/o niacina. Pruebas intradérmicas de sudor (Dorly y Mecholy), tonometría, oscilometría e índices de crecimiento de pelo y vello se efectuaron periódicamente. Estudios radiográficos* (huesos, pulmón, esófago, gastrointestinales) y radioscopias (aparato digestivo); balisto y electrocardiogramas** se realizaron en la mayoría de los pacientes antes y después del tratamiento. Se practicaron biopsias cutáneas seriadas*** en 3 pacientes.

Se estudiaron 20 casos de esclerodermia (19 mujeres de 12 a 64 años de edad y 1 hombre de 35

años); 3 casos (todas mujeres) eran esclerodermias en banda desde la arcada crural al pie, con síndrome de Raynaud incipiente y artralgias (rodilla); 2 casos de esclerodermia generalizada difusa (1 hombre y 1 mujer) y los 15 restantes acrosclerosis.

Los casos no son comparables clínicamente por sus diferencias en:

- edad
- tiempo de evolución (desde formas incipientes hasta pacientes con 12 años de enfermedad)
- historia personal y dietética (solteras, casadas con uno o varios hijos), desnutridos, etc.
- diferentes hábitos, razas y nivel social y económico.
- características propias (por ejemplo: tratamientos anteriores con ACTH y corticoides, nivel mental y situación emocional, etc.).

En consecuencia los resultados obtenidos no tienen significación estadística, pero pueden extraerse las siguientes conclusiones provisionales:

1. La administración de un máximo de 3 g diarios de EDTA durante periodos de 3 semanas (5 días por semana), con un total de 2 a 3 series (90 a 135 g total) no produjo inconveniente alguno, salvo ligero o moderado dolor en el sitio de la inyección, a veces extendido a lo largo de la vena

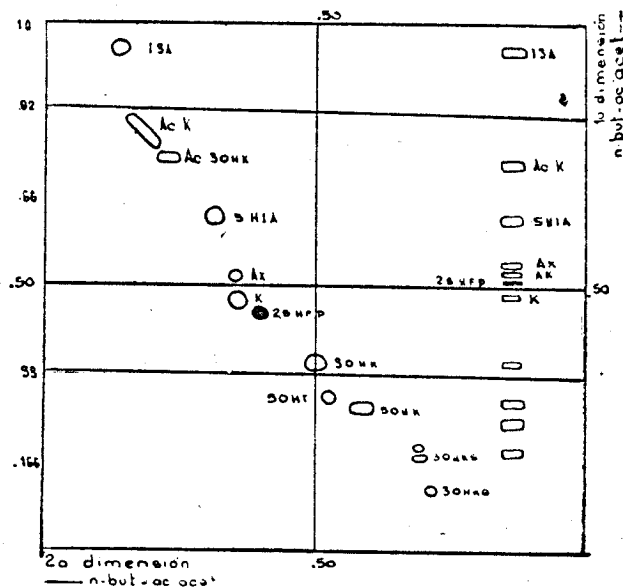
* Atención de los doctores Barnia, Speroni y Martínez Vivot.

** Atención del profesor J. A. Berreta.

*** Estudio realizado por el doctor O. Falcón.

CROMATOGRAMAS URINARIOS DE METABOLITOS DE TRIPTOFANO Y TIROSINA

ESCLERODERMIA

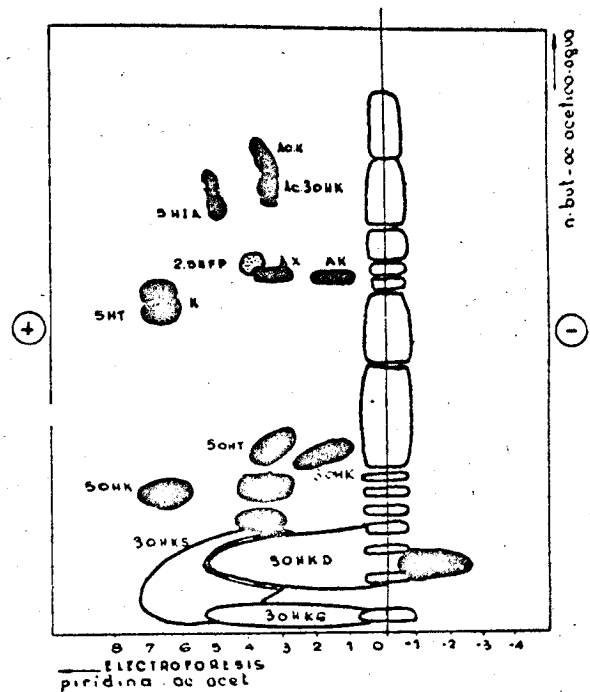


CROMATOGRAFÍA
BIDIMENSIONAL

(n-butanol - ácido acético -
agua 4:1:1)

(tiempo de desarrollo: 10 ho-
ras en cada dimensión)

ESCLERODERMIA



CROMATOGRAFÍA Y ELECTROFORESIS

(cromatografía previa con n-
butanol, ácido acético, agua
y electroforesis posterior con
piridina, ácido acético y agua
1:10; 89, pH 3,6, con 350 v)

- 13 A: ácido indol 3-acetúrico
- AcK: acetilquinurenina
- Ac 3 OHK: acetil 3-hidroxiquinurenina
- 5 HIA: ácido 5-hidroxiindolacético
- AX: ácido xanturénico
- AK: ácido quinurénico
- K: quinurenina
- 2,5 HFP: ácido 2,5-dihidroxifenilpirúvico
- 3 OHK: 3-hidroxiquinurenina
- 5 OHT: 5-hidroxitriptófano
- 5 OHK: 5-hidroxiquinurenina
- 5 HT: 5-hidroxitriptamina (serotonina)
- 3 OHKS: 3-hidroxiquinurenina sulfato
- 3 OHKG: id. id. glucurónido
- 3 OHKD: id. id. derivados

En la segunda dimensión por electroforesis pueden observarse tres manchas no identificadas (probablemente derivados del ácido xanturénico y de la 3-hidroxiquinurenina).

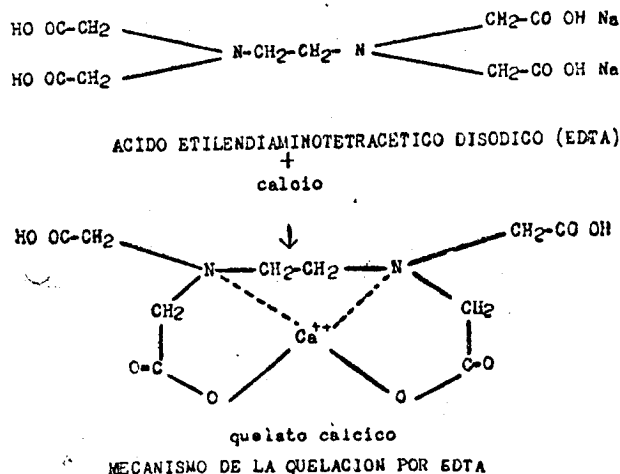
hasta la axila. En 5 pacientes hubo náuseas al co-
mienzo del tratamiento. En una paciente se observó
leve albuminuria en el 5º día del tratamiento; cesó
con la suspensión de la droga y al reanudarla con
dosis de 25 mg por kilo no se reprodujo.

2. La punción biopsia renal realizada antes y
después de una dosis de 45 g de Endrate en 3 se-
manas no evidenció alteración diferencial alguna, a
pesar de que existían lesiones previas de necrosis
fibroide y "asas de alambre" (ver microfotografía).

3. Los niveles de calcio sérico llegaron en todos
los pacientes de 5,2 a 7,3 mg % tomados poco des-
pués de terminada la infusión intravenosa. En nin-
gún caso se observó signos de tetania, salvo ligeros
temblores ocasionales en los dedos de las manos
que cesaron en pocos minutos al disminuir el nú-
mero de gotas por minuto.

4. Por cromatografía urinaria, el metabolismo
intermedio del triptófano se normalizó solamente
con el empleo de EDTA en 12 pacientes. En el res-

to, el agregado de piridoxina acentuó la tendencia a la normalización, lográndose la eliminación de 3-hidroxiquinurenina y de acetilquinurenina y acetil-3-hidroxiquinurenina.



Según nuestra experiencia el sobreaporte de niacina no pudo reemplazar el efecto de la vitamina B₆ y la sumación de B₆ más niacina no se reflejó en los cromatogramas.

La mejoría o normalización obtenida se mantuvo por varias semanas después de la suspensión del Endrate con sólo el sobreaporte de piridoxina en 5 pacientes. En los demás (15 en total) las alteraciones del metabolismo intermedio del triptófano

eran similares a las observadas al comenzar el EDTA, a pesar de la administración de piridoxina. En las series sucesivas de terapéutica "quelante" se obtuvieron resultados análogos.

5. La mejoría clínica obtenida se estableció según una escala tomando en cuenta los siguientes factores:

a) Desinfiltración paulatina de la piel y aumento de la elasticidad y movilidad cutánea y articular. Las pruebas con tonómetro cutáneo revelaron la disminución creciente del endurecimiento de la piel.

b) Atenuación o desaparición de los dolores musculares generalizados y de las artralgiás durante la administración de Endrate, efecto similar al obtenido con corticosteroides, sin euforia. Estos efectos y el aumento neto en la movilidad articular permitieron reanudar la deambulación en 2 pacientes que llevaban meses de invalidez. La pseudoartritis de las manos no se modificó.

c) Disminución franca del fenómeno de Raynaud. Los dedos de las manos aumentaron su temperatura cutánea y las pruebas con agua fría mostraron respuestas con tendencia a la normalización.

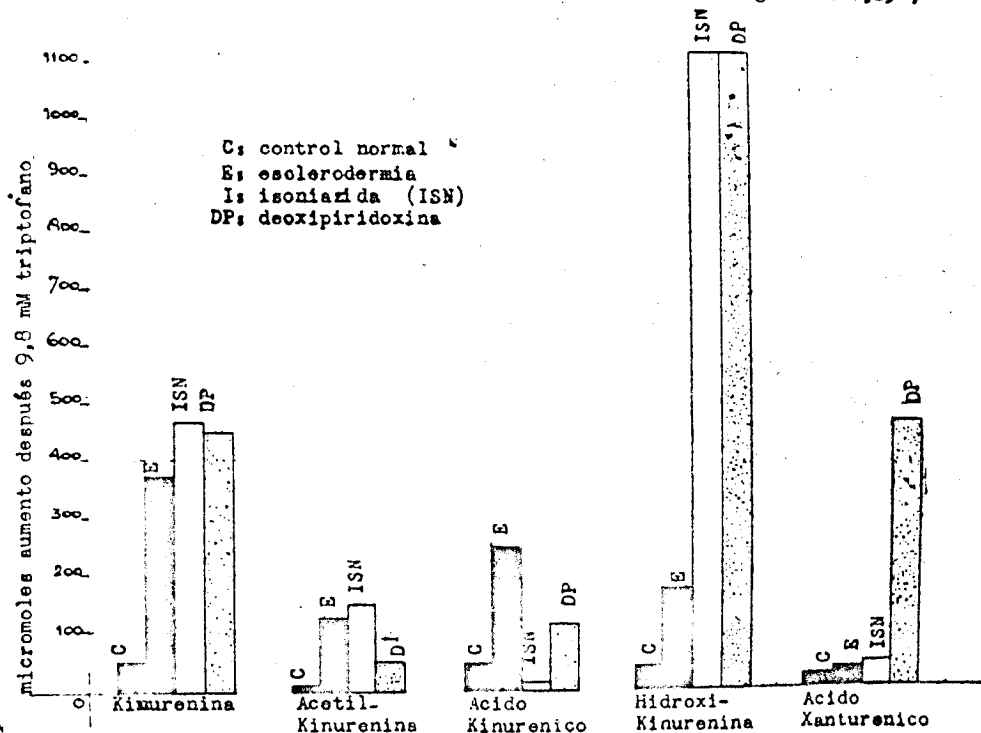
d) Cicatrización de las ulceraciones y necrosis de las manos, piernas y pies.

e) Mejoría o desaparición de la disfagia.

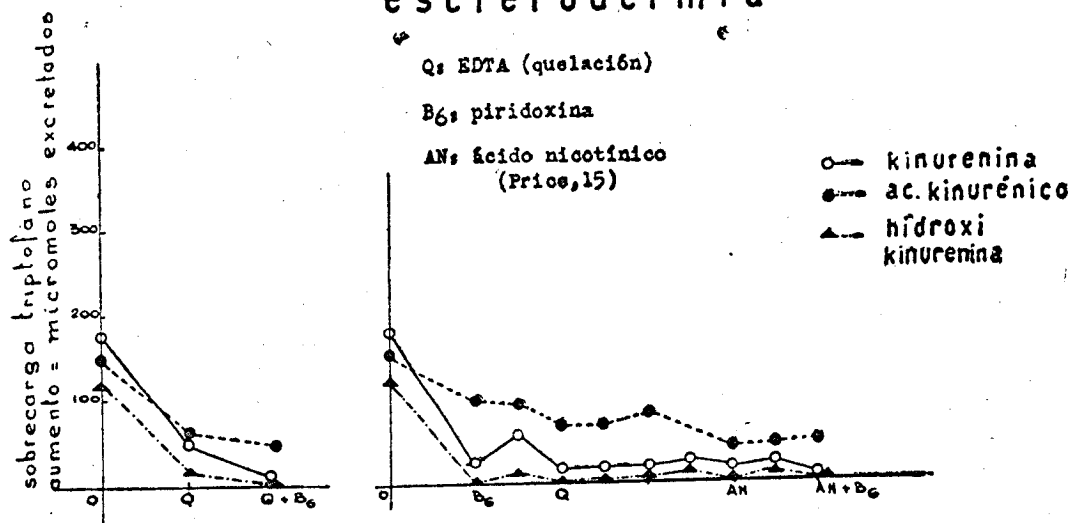
f) Mejoría del estado general, aumento de apetito y de peso.

g) Recuperación del crecimiento del pelo y vello y reaparición progresiva (parcial) de la sudoración

metabolitos del triptófano (prueba de sobrecarga) (según Price, 15)



esclerodermia



(pruebas intradérmicas con Doryl, Mecholyl y noradrenalina).

En base a esta valoración puede establecerse, en nuestro material clínico, el siguiente rendimiento terapéutico:

- 1) Mejoría = 75 % 5 casos (4 acrosclerosis, 1 en banda)
- 2) Mejoría = 50 % 6 casos (5 acrosclerosis, 1 lineal)
- 3) Mejoría = 25 % 4 casos (2 generalizados, 2 acrosclerosis)
- 4) Sin mejoría o no mayor del 10 % = 5 casos (4 acrosclerosis, 1 lineal)

Dos casos de acrosclerosis de este último grupo evolucionaron a la muerte:

Caso 1.— María A. G., 28 años. Acrosclerosis. Albuminuria de 1,80 g en el 10º día de tratamiento. En el sedimento urinario se encontraron cilindros granulosos, hialinos y hemáticos. Este cuadro mejoró notablemente al suspender el tratamiento, pero al reanudarlo en el 15º día de infusión de Endrate, se repitió el mismo accidente. Fue preparada entonces para biopsia renal por punción y exploración funcional selectiva con diodrast e inulina, pero la familia retiró a la paciente (que presentaba un cuadro psicótico y había hecho dos tentativas de suicidio). Esta paciente falleció 10 días después de abandonar el hospital, aparentemente por un síncope cardíaco. La exploración clínica y bioquímica no mostró alteración alguna fuera de las referidas. Era evidente la caquexia progresiva y existía un negativismo permanente para la alimentación, bajando 5 kilos de peso en las 3 semanas de tratamiento.

Caso 2.— Norma G., 15 años. Acrosclerosis, con caquexia y cuadro de dermatomiositis (creatinuria elevada 980 mg) y células L.E. y hipergammaglobulinemia (1,80-2,10 g). Seis meses después de la segunda serie de Endrate esta paciente falleció con un cuadro urémico. Aparte de las típicas lesiones renales se encontraron en la autopsia tuberculosis pulmonar fibrocásica de gran predominio fibroso (inexistente radiológicamente en la época del tratamiento con Endrate). Fibrosis acentuada del bazo. Tumefacción y miomalacia del miocardio. Esclerosis mitral. Desaparición de los lipoides corticales suprarrenales, con conservación de la zona glomerular y acentuada hipotrofia de las zonas reticular y fascicu-

lar. Tumefacción turbia y dilatación sinusoidal en el hígado. La mejoría obtenida en esta enferma con Endrate y piridoxina fue apenas notable en las ulceraciones e infiltración cutáneas.

PARTE II

ESTUDIO DE LAS ALTERACIONES DEL METABOLISMO INTERMEDIO DE TIROSINA. ACCION Y EFECTO DE LA ACTH Y DE LOS CORTICOSTEROIDES

Los trastornos metabólicos proteicos que se observan en la esclerodermia no se limitan a las alteraciones del triptófano. Muy recientemente Nishimura y sus colaboradores^{25, 26}, basándose en los estudios de Uchida⁴⁴, han investigado extensamente las modificaciones del metabolismo intermedio de fenilalanina y tirosina en las colagenopatías.

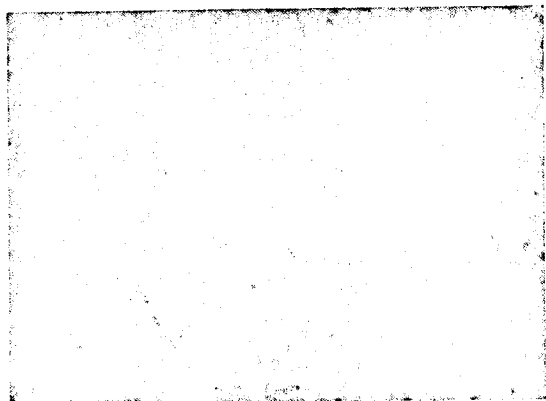
Metabolismo intermedio de fenilalanina y tirosina.

Los estudios de Neubauer (1904-1928) y Neuberger (1947) han permitido precisar los metabolitos intermedios de la degradación de fenilalanina y tirosina que conducen en su mayor parte a la formación de acetoacetato. Las rutas cuantitativamente mucho menos importantes (dopa-melanina, adrenalina y tiroxina) no serán consideradas aquí por no tener importancia para las colagenopatías (Knox⁴⁶).

La vía fenilalanina-tirosina-ácido homogentísico fue deducida de los experimentos realizados en alcaptonúricos: fenilalanina-tirosina-p-hidroxifenilpirúvico-2,5-dihidroxifenilpirúvico-2,5-dihidroxifenilacético (homogentísico)-maleil y fumarilacetoacetato (ver microfotografía).

El bloqueo enzimático después del ácido 2,5-dihidroxifenilacético conduce a la eliminación urinaria de grandes cantidades de ácido homogentísico

y constituye el trastorno bioquímico fundamental de la alcaptonuria. El bloqueo a nivel del ácido p-hidroxifenilpirúvico y eliminación de grandes cantidades de ácido o-hidroxifenilacético⁴⁷ es a su vez la alteración básica de la oligofrenia fenilpirúvica así como a nivel del paso tirosina-p-hidroxifenilpirúvico el de la tirosinosis (Medes⁴⁸). Esta historia del metabolismo de fenilalanina y tirosina representa el prototipo del análisis genético de una vía metabólica.



ESCLEROSIS SISTÉMICA PROGRESIVA (ACROSCLEROSIS)

Microfotografía de la lesión renal de Celia B., 38 años, obtenida por punción biopsia percutánea, antes del tratamiento con EDTA. Se puede observar glomerulosclerosis difusa; "asas de alambre" e intensa arteriosclerosis obliterativa. La segunda punción biopsia, realizada después de 45 g de En-drate, no reveló alteración diferencial alguna.

La exploración funcional selectiva renal practicada en esta paciente dio los siguientes resultados:

C_{cr}, depuración de creatinina endógena para determinar el filtrado glomerular: 159 (normal).

C_D, depuración de diodrast para determinar la circulación renal efectiva de plasma: 856 (normal).

TmD, para determinar el máximo de transporte tubular de diodrast: 54 mg de yodo (normal).

F.F., fracción de filtración, porcentaje de plasma que filtra en el glomérulo: 0,18 (normal).

I.I., índice de irrigación, volumen de plasma que circula por el riñón por unidad de tejido renal funcionante: 15 (normal).

B.G.T., balance glomerulotubular: 2,9 (normal).

La demostración reciente por Uchida⁴⁴ por medio de cromatografía en papel del ácido 2,5-dihidroxifenilpirúvico acumulado a partir del ácido para-hidroxifenilpirúvico en un sistema enzimático hepático de acción lenta completó la prueba. Muy recientemente Nishimura^{25, 26} ha demostrado la presencia constante de este cetoácido únicamente en la orina de pacientes con collagenopatías. De esta manera parece haberse encontrado una lesión bioquímica común que configuraría la unidad patológica de estas afecciones.

Experiencias clínicas y bioquímicas.

Para confirmar los resultados de Nishimura se efectuaron estudios bioquímicos por cromatografía

y electroforesis en papel y espectrofotometría, según las técnicas detalladas en la parte I de este trabajo (pág. 3). Los cromatogramas normales y anormales pueden verse igualmente en las figuras adjuntas. Las pruebas de sobrecarga fueron realizadas con 1 g de L-tirosina^{25, 26, 27} en lugar de l-triptófano.

En los 12 casos de esclerodermia estudiados pudo demostrarse la aparición frecuente pero no constante del ácido 2,5-dihidroxifenilpirúvico. Este metabolito anormal de tirosina sólo ha podido ser detectado en la orina de pacientes con esclerodermia, lupus eritematoso y dermatomiositis y en un prematuro y un niño de 4 años aparentemente sano. Sólo en estos dos últimos la anomalía desaparece o se atenúa bajo la acción del ácido ascórbico.

Seis de los pacientes con esclerodermia, 6 con lupus eritematoso sistémico y 2 con dermatomiositis fueron sometidos a la acción de ACTH y corticosteroides²⁷. La ACTH fue administrada por infusión intravenosa lenta, 25-50 U en 500 cm³ de suero glucosado isotónico, durante 6 horas diarias por períodos de 7 días. Los 17-cetosteroides y 17-hidrocorticoides urinarios dosificados antes y después del período experimental demostraron una respuesta suprarrenal normal.

Los corticosteroides (cortisona 100-300 mg; hidrocortisona 80-120 mg; prednisona y prednisolona 20-30 mg y dexametasona 2-3 mg diarios) fueron administrados por períodos de 7 días, con intervalos libres variables, de 5 a 7 días.

La cromatografía y electroforesis en papel de los metabolitos urinarios realizadas al final de cada período demostraron la ausencia del ácido 2,5-dihidroxifenilpirúvico en la orina de los pacientes estudiados. El significado de estos hallazgos es desconocido, pues no se apreció diferencia objetiva sensible en los signos de valoración que fueron precisados en el capítulo anterior.

Al suspender la administración de ACTH o de cualquiera de los corticosteroides el ácido 2,5-dihidroxifenilpirúvico reaparece frecuentemente en la orina dentro de los 5 días subsiguientes y desaparece nuevamente al readministrar aquellas hormonas.

PARTE III

EFFECTO DE LA RELAXINA EN LA ESCLERODERMIA

Durante el curso de estudios sobre el efecto de ciertas hormonas en el tejido conectivo de la rata se observó que la relaxina aumenta la elasticidad de la piel *in vivo*²⁸. De esto surgió la posibilidad del uso de relaxina en pacientes que sufren la pérdida de la elasticidad cutánea como los esclerodérmicos.

La *relaxina* es una hormona polipeptídica que se produce abundantemente durante el embarazo y se extrae del cuerpo amarillo de cerdas preñadas y de la placenta de conejas. Produce relajación de la sínfisis pubiana y de otras estructuras conectivas y elásticas depolimerizando la sustancia fundamental del colágeno.

Boucek y Casten²⁸ trataron 23 pacientes con esclerodermia por períodos de 6 a 30 meses obteniendo significativas mejorías en el endurecimiento de la piel, fenómeno de Raynaud y ulceraciones tróficas, sin efectos indeseables o tóxicos.

Evans²⁹ trató 11 pacientes obteniendo mejorías menos importantes que las de Boucek y Casten. Según Evans el efecto de la *relaxina* es mayor en los pacientes simpaticetomizados. El resultado fue excelente en un caso de fibrosis pulmonar esclerodérmica, en la movilidad articular, en la disfagia y en las ulceraciones tróficas.

En este estudio la *relaxina* fue empleada en 6 casos de esclerodermia generalizada (1 difusa y 5 acrosclerosis) y 2 casos de esclerodermia en banda.

La hormona * fue empleada por vía intramuscular, en dosis de 40 a 60 mg diarios (en 1 ó 2 inyecciones) durante períodos de 42 días a 8 meses. Como los estrógenos son necesarios como "mordientes" de la acción de la *relaxina* los 8 pacientes fueron tratados contemporáneamente con 1 mg de dietilestilbestrol o 0,05 mg de etinilestradiol diarios por vía oral. Durante su administración no deben emplearse ACTH ni corticosteroides que bloquean la acción "ralajante"²⁸.

En 8 casos se obtuvo una mejoría objetiva en la induración cutánea, en la cicatrización de las ulceraciones tróficas, disfagia y movilidad articular. Estos signos positivos fueron marcados en 2 casos, moderados en otros 2 y leves en los 4 restantes. La terapéutica sólo fue efectiva *durante* la administración de la droga ya que a las 2 semanas de suspensión, la regresión al punto de partida fue constante. El alto costo de la droga y el dolor creciente en las masas musculares inyectadas impidieron la continuación de la experiencia.

No se observó modificación alguna en los exámenes hematológicos, bioquímicos sanguíneos o urinarios y hormonales (17-cetosteroides y 17-hidroxicorticoides urinarios, yodo proteico plasmático) durante el curso de la experiencia. Los estudios de cromatografía y electroforesis en papel de los metabolitos urinarios de triptófano y tirosina (véase partes I y II) no revelaron modificación alguna durante o después del tratamiento.

La *relaxina* aumenta el número de capilares en la sínfisis pubiana y en la piel. Esto se observa claramente por el empleo local intradérmico de la hormona en las placas esclerodérmicas. La respuesta de las ulceraciones tróficas a la *relaxina* está en

relación con la depolimerización de la sustancia fundamental del conectivo, lo que permite una difusión más rápida de sustancias desde los vasos, mejorando la nutrición de la piel²⁸.

El aumento de elasticidad de la piel de los pacientes con esclerodermia debe ser relacionado con la acción de la *relaxina* sobre las fibras colágenas y elásticas. La administración de *relaxina* causa un marcado aumento en el tejido conectivo de glicina marcada con C¹⁴⁴⁰.

Los efectos de la *relaxina* nos sugirieron la conveniencia de alternar su empleo con el edatamil sódico durante los períodos de descanso del Endrate. Estas experiencias están en pleno desarrollo.

PARTE IV

ESTUDIO DE LA ACCION DE LAS DROGAS ANTISEROTONINA EN LAS ESCLERODERMIAS (LSD 25, BOL 148 y SA-97)

Desde el comienzo de nuestros estudios cromatográficos en la orina de los pacientes con colagenopatías se pudo detectar la existencia de metabolitos indólicos en cantidades a veces anormales. Una paciente con acrosclerosis presentaba accesos de vasodilatación facial con gran sensación de calor y sudores profusos, similares a las tufaradas de la menopausia y a los descritos en el síndrome del carcinoide maligno³⁰. En la orina de esta enferma se encontró —entre otros metabolitos del triptófano— una eliminación franca de 5-hidroxitriptamina (serotonina). La paciente refería que este acceso congestivo se producía también cuando comía "muchas bananas" y este fenómeno se interpretó como de naturaleza alérgica y nos recordó un caso de periarteritis nudosa, en un hombre observado hace varios años, que presentaba una sintomatología similar con la ingestión de bananas.

Poco tiempo después, el trabajo de Waalkes y sus colaboradores³¹ orientó en la naturaleza del fenómeno. Cada banana contiene 3,7 mg de serotonina y 0,25 mg de noradrenalina y normalmente con 20 mg de serotonina (oral) pueden obtenerse efectos fisiológicos.

La paciente recibió 2 mg de SR 134 (serotonina creatinina sulfato *) por vía intravenosa y presentó signos similares a los que experimentaba en sus crisis vasculares, acompañados de una intensificación del fenómeno de Raynaud y tendencia a la diarrea y a la depresión ansiosa.

Contemporáneamente, Pérez Morales³² comunicó la mejoría obtenida en una paciente de lupus eritematoso con un síndrome psicótico tratada con LSD 25 (dietilamida del ácido d-lisérgico, derivado de la ergonovina con propiedades alucinógenas) con

* Suministrada por cortesía de los Laboratorios Elea, Buenos Aires.

* Atención del Departamento Médico de Sandoz Ltda., Basilea.

el fin de "movilización" psíquica que favorece el rendimiento psicoterápico.

En base a estas observaciones se efectuó un estudio con antagonistas de la serotonina en un grupo de pacientes esclerodérmicas.

Material y métodos.

1. Drogas empleadas.

a) LSD 25. — La dietilamida del ácido lisérgico (Delysid)*, fue administrada por vía oral en ayunas, a 4 pacientes de acrosclerosis y 1 paciente control, a razón de 1 a 4 gammas por kilo de peso. En 2 de las pacientes se efectuaron un total de 9 sesiones, 1 cada 7 días y 2 a 4 sesiones en las otras 3.

En todas ellas se efectuaron registros de pulso, temperatura y presión arterial cada 60 minutos; pruebas de sudoración (Doryl, Mecholyl y noradrenalina); temperatura (Dermalor, Mc Kesson) y tonometría cutánea cada 2 horas y de nivel de secreción sebácea cada 4 horas (técnica de K. K. Jones⁵³), durante 10 horas y a las 24 horas de la ingestión de LSD 25.

Dos de los casos fueron cinematografiados para obtener registros objetivos de la extensión de los movimientos de las manos, muñecas y mandíbula inferior.

Todos estos pacientes fueron estudiados antes, durante y después de las experiencias por el equipo psiquiátrico cuyas conclusiones se exponen al final de esta sección. Durante las experiencias, realizadas con una carga previa de 2 g de triptófano, se recogieron las orinas cada 4 horas durante 24 horas y cada muestra y la mezcla total fueron estudiadas por cromatografía y electroforesis en papel (según los métodos explicados en la parte I).

b) BOL 148*. — Derivado bromado del LSD 25, prácticamente carente de efectos alucinatorios. Se utilizó en las mismas 4 pacientes y en otras 2 con acrosclerosis y 2 controles, hasta 10 mg por vía oral y 2.5 por vía intramuscular.

El estudio fisiológico y cromatográfico fue realizado en forma similar al efectuado para el LSD 25.

c) SA-97**. — Clorhidrato de N-p clorobenzhidril-N'-metil homo piperazina, con gran actividad antiserotonina y antihistamínica, moderada acción antiacetilcolina y broncodilatadora, antifibrilante y dilatadora coronaria y con cierto grado de estimulación central.

Como antiserotonina tiene una potencia similar al BAS (1-bencil-2,5-dimetilserotonina) con la diferencia que el SA-97 es estimulante y no depresor central⁵⁴.

SA-97 se administró por vía oral con un máximo de 100 mg y por vía intramuscular hasta 20 mg

* Atención del Departamento Médico de Sandoz Ltda., Basilea.

** Atención del Departamento Médico de Abbott, Int., North Chicago.

diarios, en 7 pacientes con acrosclerosis. Se condujeron estudios fisiológicos y cromatográficos similares a los ya citados.

d) Adrenocromo. — En vista de las experiencias de Hoffer⁵⁵ que ha encontrado que las diferencias de acción entre LSD 25 y BOL 148 se deben al aumento de adrenocromo plasmático —derivado de adrenalina— que se obtiene con el primero y no con el BOL 148, se efectuaron algunos ensayos con 8 mg de adrenocromo diarios por boca o por vía intramuscular durante 8 a 10 días en 5 pacientes con acrosclerosis.

Los controles fisiológicos y cromatográficos se realizaron en forma análoga a la descrita.

Resultados.

Los resultados inmediatos obtenidos con LSD 25 son los siguientes:

1. Dilatación arteriolar y capilar (manos, pies, cara) que comienza a las 2-3 horas de la administración del Delysid y que persiste durante 8 a 10 horas.

2. La temperatura cutánea de las mismas zonas aumenta 1,5° a 2,5° C durante períodos equivalentes.

3. Las pruebas de sudoración cambian 6 horas después del Delysid. Noradrenalina (1:1.000.000) intradérmica, negativa antes, se hace 1+ a 2+ después de la droga.

Las reacciones con Doryl y Mecholyl aumentan de 2+ a 4+.

4. La perspiración insensible no es aparentemente modificada 6 horas después del Delysid.

5. Las pruebas de secreción sebácea (con Sudan Black B y Noir-au-gras) no revelaron modificación aparente a las 10 y 24 horas del Delysid.

6. La tonometría cutánea mostró una disminución objetiva de 3 a 4 medidas (aproximadamente 20 %) de la tensión de la piel, comenzando a la 4ª hora y durando por lo menos 24 horas después del Delysid.

7. La disfagia desapareció en las 2 pacientes que la presentaban durante la prueba y por 3 a 5 días.

8. La movilidad de las manos (dedos y muñecas) y de la cara y articulaciones en general, fue sorprendentemente mejorada desde las 3 y 4 horas de la administración del Delysid, persistiendo de 24 a 96 horas para volver lentamente al punto inicial.

Las mejorías fueron similares en cada sesión y no parecen depender de la dosis. Las pacientes refieren experimentar una inesperada sensación de "liviandad" y facilidad y elasticidad de movimientos "como antes del comienzo de la esclerodermia".

En líneas generales puede agregarse además que:

1. El BOL 148, a las dosis empleadas, carece de las acciones observadas con LSD 25 en los casos

estudiados, salvo en el aumento (leve) de temperatura y sudoración cutáneas. No se apreció efecto en la tensión y elasticidad de la piel.

2. El SA-97 parece tener una acción mayor sobre los signos cutáneos, articulares y la disfagia que el BOL 148 pero la experiencia es aún muy limitada con esta droga.

3. El *adrenocromo* produjo una pequeña pero significativa mejoría en la elasticidad cutánea y movilidad articular de 2 de las pacientes estudiadas, que se acentuaba al aumentar la dosis, efecto similar al de la *relaxina*. Pero el *adrenocromo* tiene el serio inconveniente de ser vasoconstrictor y en las 2 pacientes se produjo —al tiempo que mejoraba la movilidad— un empeoramiento neto del fenómeno de Raynaud, obligando a la suspensión inmediata de la droga.

Cromatográficamente los resultados obtenidos no son fácilmente clasificables. El LSD 25 y el SA-97 producen frecuente pero no constantemente una desaparición de las manchas Ehrlich positivas correspondientes a la serotonina en los cromatogramas.

Esto se observa también ocasionalmente con BOL 148 y con *adrenocromo*.

El significado de estos hallazgos es desconocido. Es evidente la necesidad de más observaciones y mejores técnicas analíticas para poder obtener una información adecuada.

Estudio psiquiátrico en 2 pacientes de acroscle- rosis tratados con LSD 25 (ácido lisérgico).

Caso 1. — A. P. Q., 58 años, soltera, profesora de Filosofía y Letras. Personalidad previa a la administración de LSD 25: activa, muy sociable, controlada, alegre, preocupada a veces, obsesiva (obstinada, rígida, perfeccionista), expansiva, religiosa. Estos caracteres adornan una estructura paranoica básica. Se efectuaron 9 sesiones con Delysid, la cuarta fue con un placebo ("doubleblind test").

Observaciones en el curso de las experiencias: En la primera sesión se advirtió un aumento subjetivo y objetivo de movilidad en las manos y cara (a las 2 horas y 20 minutos de iniciada la experiencia) que fue disminuyendo gradualmente en el curso de la semana. En la segunda experiencia, luego de 4 días comienza a sentir más movilidad en las manos. En la tercera este fenómeno no fue tan notable, aunque advirtió menos rigidez en las mandíbulas, y no volvió a repetirse con la importancia de la sesión inicial.

Se observó además rubefacción facial y prurito periblabial. Todo esto fue acompañado por algunos de los fenómenos habituales en las experiencias con el LSD 25 de los cuales los fundamentales fueron, hasta la cuarta sesión: liviandad muscular, relajación, temblor "interno", mareos, náuseas, trastornos del esquema corporal (parciales), trastornos perceptivos (ilusiones, alucinaciones oníricas). Luego, con mayor estímulo externo, se movilizó un rico material subconsciente, que repercutió sobre el psiquismo euforizándola y animándola a continuar con nuevas sesiones de LSD 25.

Caso 2. — E. A. V., 36 años, soltera, argentina, maestra. En 1949 se le efectuó una simpatectomía bilateral (estelectomía). Personalidad previa al LSD 25: tono emocional predominantemente depresivo, activa y culta, con tendencia a la timidez, ansiosa y tímida, con una estructura básica de tipo obsesivo-fóbico.

Observaciones en el curso de las experiencias: En la primera sesión aparecieron pseudoalucinaciones oniroides, sudoración y despersonalización. En la segunda experiencia, a la hora de la ingestión de LSD 25, comienza a sentirse "floja", con menos tensión peribucal y puede abrir la boca con más facilidad. Frialidad subjetiva y objetiva con cianosis en las manos y pies; transpiración fría y viscosa en todo el cuerpo y mayor movilidad en las manos y pies. El resto de la sintomatología es la habitual bajo los efectos de LSD 25. Recordó vivencias importantes y esa noche no pudo conciliar el sueño (a pesar de tomar 3 cápsulas de amytal sódico 0,20 g). En el curso de la semana siguiente se advirtió mayor movilidad y armonía de movimientos. En la tercera sesión vuelve a sentirse rígida, pero al hacerle realizar movimientos comprueba que no es así, sino que en realidad estaba mejorada; siguen a esta sesión 3 días de gran angustia (había fallecido una paciente con el mismo diagnóstico en su sala). En la cuarta experiencia (placebo), no aparecieron los fenómenos psíquicos propios del LSD 25 pero hubo más movilidad que antes del placebo. En la quinta experiencia vuelve la movilidad aumentada en manos y dolor muy intenso en úlcera maleolar y en la rodilla. Se presenta un cuadro de angustia muy intenso, al recordar vivencias muy traumáticas. Toda esta sintomatología fue siempre acompañada por los fenómenos perceptivos propios del LSD 25. En la séptima experiencia hubo un autismo marcado. En la octava apareció marcada labilidad emocional y rigidez en el brazo izquierdo. En la novena experiencia, dolores en todo el cuerpo especialmente en los dedos de las manos; molestias precordiales; gran angustia y llanto al vivir con intenso dolor la realidad de su enfermedad. Se decidió la suspensión de las experiencias por temerse que la enferma cayera en el terreno psicótico.

Conclusiones.

Concomitancias observadas:

1. Aumento evidente de la movilidad en regiones del cuerpo donde la rigidez era comprobada con anterioridad a las pruebas. Este carácter adquiere su máxima expresión en las primeras experiencias, sin modificarse mayormente en las siguientes;
2. Mejoría en el ritmo del sueño, especialmente en el caso 1.

Las *diferencias* observadas en el cuadro psíquico de cada una corresponden a sus respectivas personalidades previas. El caso 1 presentó un cuadro de tipo hipomaniaco, y el caso 2 una marcada reacción de tipo esquizofrénico.

Los fenómenos psíquicos observados en estos 2 casos no difieren de aquellos producidos por LSD 25 en pacientes no esclerodérmicos.

Datos obtenidos en los exámenes psicológicos realizados en las pacientes anteriores.

Caso 1. — Tests realizados: Rorschach; test gustáltico visomotor de Bender; test de pirámides de colores.

Personalidad expansiva, extrovertida que se adapta al medio social que la rodea. Tendencias a humor maniaco-depresivo, angustia reprimida. Inteligente y pedante. Tendencia a inhibir la actividad imaginativa. Personalidad fuerte y que controla mucho sus reacciones. Los conflictos afectivos son rechazados del plano de la conciencia.

En los tests realizados durante las experiencias con LSD 25 se notan modificaciones en el sentido de una disminución de su control consciente sobre su angustia que aparece con mayor claridad, aumento de la depresión con menor tensión interior.

Caso 2. — Tests realizados: Psicodiagnóstico de Rorschach; test gustáltico visomotor de Bender; test de pirámides de colores.

Personalidad que responde a los estímulos del medio ambiente, a veces inadecuadamente, debido a su labilidad emocional con marcados tintes depresivos. Personalidad insegura con ideas de muerte. Inteligencia normal con tendencia a la minuciosidad y a la crítica. Muy imaginativa. Angustia fóbica.

En los tests realizados durante las experiencias con LSD 25 se notan modificaciones poco marcadas en el mismo sentido de la personalidad previa.

Discusión.

Las cuatro partes expuestas ponen de relieve cuatro enfoques del problema patogénico de la esclerosis sistémica progresiva los que, en último análisis, nos conducen a una compleja concepción bioquímica de la enfermedad.

Los resultados expuestos en el curso de este trabajo confirman las investigaciones de Price y sus colaboradores^{14,16} referentes a las modificaciones del metabolismo intermedio del triptófano.

Las pruebas con sobrecarga de triptófano con resultados anormales no se presentan constantemente anormales en cada caso de una enfermedad definida. Por ejemplo, para Price¹⁶ en el hipertiroidismo los resultados son normales pero los 3 casos de Wachstein³⁷ revelaron anomalías metabólicas francas. Puede concluirse, con este último autor, que los pacientes que reaccionan anormalmente a la carga de triptófano sufren enfermedades bien conocidas como asociadas a un aumento del catabolismo proteico. El alto índice de destrucción proteica conduce a una relativa insuficiencia de los sistemas enzimáticos responsables de la degradación de aminoácidos. Cuando estos sistemas, como el de la quinurenina y 3-hidroxiquinurenina transaminasas y el de quinurenina hidroxilasa, son inhibidos por la acción de la isoniazida (Price¹⁴), la acumulación de metabolitos puede llegar a ser considerable y es análoga a la que se observa espontáneamente en la esclerodermia y en el cáncer de vejiga¹⁶ y en menor grado en el lupus eritematoso y la dermatomiositis. Esta "lesión" bioquímica puede ser rectificada al menos en parte, por piridoxina (Price^{14,15,16} y Wachstein³⁷) y es evidentemente modificada por la acción de la ACTH y de los corticosteroides. Es muy probable que la actividad hormonal se ejerza por vía de los sistemas enzimáticos involucrados en la degradación del triptófano. Hicks y West⁵⁶ han demostrado, por ejemplo, la disminución de serotonina por acción moderadora de los corticoides sobre la 5-hidroxitriptófano decarboxilasa. En uno de nuestros casos de lupus eritematoso no se observó disminución de la eliminación urinaria de una gran cantidad de 3-hidroxiquinurenina después de administrar ACTH, cortisona, prednisona, ni dexametasona. La explicación podría deberse a que en este paciente el parénqui-

ma renal había sido prácticamente destruido (comprobado por punción biopsia) por el proceso patológico y existen pruebas de que la transaminación de 3-hidroxiquinurenina para convertirse en ácido xanturénico se realiza fundamentalmente en el riñón (Sylianco y Berg⁵⁷). En esta experiencia la actividad de la corticotrofina y corticoides no pudo ser demostrada.

La relación entre la tendencia a la normalización metabólica y la mejoría clínica por acción hormonal parece parcialmente comprobada en algunas afecciones como el lupus eritematoso y menos claramente en esclerodermia y dermatomiositis. En la esclerodermia las alteraciones del metabolismo proteico son parcialmente comunes con las del lupus eritematoso pero existen algunos aspectos que las diferencian netamente y las vinculan con modificaciones del metabolismo mineral (calcio, magnesio) y vitamínico (piridoxina, riboflavina). Cualitativamente también existen diferencias importantes con las dermatomiositis donde ocurren alteraciones del metabolismo de creatina cuya patología bioquímica no está bien aclarada.

Por otra parte ha podido demostrarse la presencia del ácido 2,5-dihidroxifenilpirúvico en la orina de numerosos pacientes con esclerodermia, lupus eritematoso y dermatomiositis de acuerdo con lo publicado por Nishimura y sus colaboradores^{25,26}. Sin embargo este aspecto ofrece algunos puntos de crítica. La identificación del ácido 2,5-hidroxifenilpirúvico en la orina no ha podido realizarse sistemáticamente en este trabajo de una manera indiscutible ni tampoco por espectrofotometría, quizá por la débil concentración del metabolito en la orina de los pacientes con collagenopatías y creemos que no es suficiente la identificación cromatográfica (Rf, fluorescencia, reacciones de coloración) para una confirmación definitiva. Queda, además, por demostrar la responsabilidad patogénica de esta supuesta alteración del metabolismo intermedio de fenilalanina y tirosina y el significado de la presencia ocasional de este metabolito en la orina de un prematuro y de un niño aparentemente sano. De cualquier manera la presencia del ácido 2,5-dihidroxifenilpirúvico en la orina de los pacientes con collagenopatías y su desaparición por la actividad de la ACTH y corticoides sugiere la existencia de una lesión bioquímica común, como afirman los investigadores japoneses, y por analogía permite incorporar provisionalmente estas afecciones al grupo de las enfermedades producidas por errores genéticos o congénitos del metabolismo, revelados a lo largo de la vida por causas desencadenantes nutritivas, endocrinas o infecciosas⁵⁸. Lo que sí puede quedar expresado es que las experiencias clínicas y bioquímicas propias y ajenas expuestas en este trabajo sugieren la existencia de pruebas considerables para estimar las collagenopatías como trastornos del metabolismo intermedio de

las
arc
agi
pro
da
la
fer

gas
die
cie
pro
vio
sen
los
aqu
cen
pro
qui
fisi
inte
la v
pat

Res

1.

2.

3.

4.

5.

6.

1. Br
34
2. St
sd

las proteínas y especialmente de los aminoácidos aromáticos.

El interesante efecto de la relaxina permite agregar a la terapéutica de la esclerosis sistémica progresiva una nueva hormona con acción definida pero sobre todo constituye un instrumento para la investigación clínica en la patología de las enfermedades esclerosantes.

El sorprendente resultado obtenido con las drogas antiserotonina⁵⁹ y muy especialmente con la dietilamida del ácido lisérgico (LSD 25) es suficientemente alentador como para profundizar su probable mecanismo. La influencia del sistema nervioso central en la patología de afecciones que presentan problemas vasculares y metabólicos como los de la esclerodermia no necesita ser discutida aquí. Pero lo llamativo es que drogas de actividad central tan definida como el ácido lisérgico y que producen una modificación tan profunda del psiquismo, proyecten su acción farmacológica en la fisiología del tejido conectivo y en el metabolismo intermedio de ciertos aminoácidos. Esta es, quizá la vía de investigación clínica más atrayente en la patología de la esclerosis sistémica progresiva.

Resumen.

1. Cuatro enfoques bioquímicos complementarios de la esclerosis sistémica progresiva (esclerodermia) son estudiados en 24 pacientes y 91 individuos aparentemente sanos o afectados por enfermedades variadas.
2. Los trastornos del metabolismo intermedio del triptófano y del calciomagnesio y su modificación por drogas quelantes y vitaminas (piridoxina, niacina) son estudiados en 20 pacientes de esclerodermia.
3. Los trastornos del metabolismo intermedio de tirosina y sus modificaciones por acción de la ACTH y los corticosteroides han sido estudiados por medio de cromatografía y electroforesis en papel en 12 enfermos de esclerodermia.
4. Ocho casos de esclerodermia fueron tratados con relaxina, por periodos de 42 días a 8 meses.
5. Tres drogas de acción antiserotonina (LSD 25, BOL 148 y SA-97) fueron ensayadas en un grupo de esclerodérmicos (5, 6 y 7 pacientes respectivamente). Su acción fisiológica y el estudio psiquiátrico revelan una definida actividad modificadora de los signos fundamentales de las esclerodermias sistémicas.
6. La discusión de los cuatro aspectos complementarios presentados en este trabajo conduce a una compleja concepción bioquímica de la enfermedad.

BIBLIOGRAFIA

1. Brunsting, L. A.: Scleroderma. "Proc. Staff Meet.", Mayo Clin., 34:66, 1959 (Feb. 4).
2. Sato, Z.: The problem of interrelation between diffuse generalized scleroderma, acrosclerosis, Raynaud's phenomenon and Raynaud's disease. A clinical study based on an analysis of 70 cases. "Dermatologica", 118:1, 1959.
3. Donaghy, F. E.: Esophageal involvement in diffuse scleroderma. "Proc. Staff Meet.", Mayo Clinic, 34:75, 1959 (Feb. 4).
4. Drew Miller, R.; Fowler, W. S. and Helmholtz, F. H.: Scleroderma of the lungs. "Proc. Staff Meet.", Mayo Clin., 34:66, 1959 (Feb. 4).
5. Windesheim, J. H.; Parkin, T. W.: Electrocardiograms of 90 patients with acrosclerosis and progressive diffuse sclerosis (scleroderma). "Circulation", 27:874, 1958.
6. Beretta, J. y Mom, A. M.: Alteraciones balisto y electrocardiográficas en la esclerodermia (en prensa).
7. Fisher, E. R. and Rodnan, G. P.: Pathologic observations concerning the kidney in progressive systemic sclerosis. "A. M. A. Arch. Path.", 65:29, 1958.
8. Calvert, A. and Owen, J.: True scleroderma kidney. "Lancet", 271:19, 1956.
9. Rodnan, G. P.; Schreiner, G. and Black, R.: Renal involvements in progressive systemic sclerosis (generalized scleroderma). A review. "Am. J. Med.", 23:445, 1957.
10. Leriche, R. et Jung, A.: Nature et origine de la sclérodémie. "Presse méd.", 43:1361, 1935 et "Bull. Soc. franc. derm. et syph.", 42:885, 1935.
11. Curtis, A. C. and Jansen, T. G.: The prognosis of localized scleroderma. "A. M. A. Arch. Dermat.", 78:749, 1958.
12. Muller, S. A.; Winkelmann, R. K. and Brunsting, L. A.: Calcinosis in dermatomyositis and scleroderma. "A. M. A. Arch. Dermat.", 79:669, 1959.
13. Tui, C.; Kuo, N. H. and Simuango, S.: Protein studies in scleroderma. "J. Invest. Dermat.", 15:181, 1950.
14. Price, J. M.; Brown, R. R. and Larson, F. C.: Quantitative studies on urinary metabolites of tryptophan as affected by isoniazid and deoxyripyridoxine. "J. Clin. Invest.", 36:1600, 1957.
15. Price, J. M.; Brown, R. R.; Ruskavina, J. G.; Mendelson, C. and Johnson, S. A. M.: Scleroderma (Acrosclerosis). Treatment metabolism before and during treatment by chelation (E. D. T. A.). "J. Invest. Dermat.", 29:289, 1957.
16. Price, J. M.: Disorders of tryptophan metabolism. "Un. Mich. Med. Bull.", 24:461, 1958.
17. Cornbleet, T. and Struck, C. K.: Calcium metabolism in scleroderma. "Arch. Derm. and Syph.", 35:188, 1937.
18. Kusnoki, A.: Kalkstoffwechsel bei Skleroderma. "Dermat. Wechschr.", 108:627, 1939.
19. Armstrong, W.: Homeostasis of connective tissue. I. Calcium-sodium equilibrium. "Arch. Path.", 58:26, 1954.
20. Engel, B.; Joseph, N. and Catchpole, H. R.: Equilibrium of calcium and other ions in connective tissue. 5th. Conf. on Metabolic Interrelation with Special Reference to Calcium, p. 105. J. Macy Jr. Found., New York, 1953.
21. Drew Miller, R.; Keating, F. R. and Winkelmann, R. K.: Progressive systemic sclerosis. Acrosclerosis with extensive visceral involvement; report of a case. "Proc. Staff Meet.", Mayo Clin., 34:64, 1959.
22. Klein, R. and Harris, S. B.: Treatment of scleroderma, sclerodactylia and calcinosis by chelation. "Am. J. Med.", 19:798, 1955.
23. Ruskavina, J. G.; Mendelson, C.; Price, J. M.; Brown, R. R. and Johnson, S. A. M.: Scleroderma (acrosclerosis). Treatment of three cases of the non-calcific variety by chelation (EDTA). "J. Invest. Dermat.", 29:273, 1957.
24. Winkelmann, R. K.: Treatment of systemic scleroderma. "Proc. Staff Meet.", Mayo Clin., 34:55, 1959.
25. Nishimura, N.; Yasui, M.; Okamoto, H.; Kanazawa, M.; Kotake, Y.: Intermediary metabolism of phenylalanine and tyrosine in diffuse collagen diseases. "A. M. A. Arch. Dermat.", 77:255, 1958.
26. Nishimura, N.: Comunicación personal a los autores.
27. Mom, A. M.; Ubalton, S. P. y Dégano, I.: Actividad de la ACTH en el metabolismo intermedio normal y patológico de triptófano y tirosina. Rev. argent. Endocr. Metab. (en prensa).
28. Casten, R. and Boucek, C. F.: The use of relaxin in the treatment of scleroderma. "J. A. M. A.", 166:319, 1958 (En. 25).
29. Evans, J. A.: Relaxin (Relasin) therapy in diffuse progressive scleroderma. "A. M. A. Arch. Dermat.", 79:150, 1959 (Febr.).
30. Dalglish, C. E.: The relation between pyridoxine and tryptophan metabolism studied in the rat. "Biochem. J.", 52:3, 1952.
31. Charconnet-Harding, F.; Dalglish, C. E. and Neuberger, A.: The relation between riboflavin and tryptophan metabolism studied in the rat. "Biochem. J.", 53:513, 1953.
32. Dalglish, C. E. and Tekman, S.: The excretion of kynurenine and 3-hidroxykynurenine by man. "Biochem. J.", 56:458, 1954.
33. Dalglish, C. E.: The relation between thiamine, biotin and tryptophan metabolism studied in the rat. "Biochem. J.", 61:328, 1955.
34. Dalglish, C. E.: Two-dimensional paper chromatography of urinary indoles and related substances. "Biochem. J.", 64:481, 1956.
35. Dalglish, C. E. and Tabachian, H.: Comparison of the metabolism of uniformly C14 labelled L-phenylalanine, L-tyrosine and L-tryptophan in the rat. "Biochem. J.", 62:625, 1956.
36. Brown, R. R. and Price, J. M.: Quantitative studies of metabolites of tryptophan in the urine of the dog, cat, rat and man. "J. Biol. Chem.", 219:985, 1956.
37. Wachstein, M. and Lobel, S. A.: The relation between tryptophan metabolism and vitamin B6 in various diseases as studied by paper chromatography. "Am. J. Clin. Path.", 26:910, 1956.
38. Mehler, A.; En McElroy, W. E. and Glass, B. (Editores). A Symposium of Amino Acid Metabolism. The John Hopkins Press, Baltimore, 1955, pág. 882.
39. Udenfriend, S.: Biochemical, Physiological and Pharmacological Aspects of Serotonin. "Rec. Progress Research Hormone", 13:1, 1957.

40. Knox, W. E.: *Two mechanisms which increase in vivo the liver tryptophan peroxidase activity: specific enzyme adaptation and stimulation of the pituitary-adrenal system.* "Brit. J. Exper. Path.", 32:462, 1951.
 41. Metzler, D. E.; Ikawa, M. and Snell, E. E.: *A general mechanism for vitamin B₆-catalyzed reactions.* "J. Am. Chem. Soc.", 76:648, 1954.
 42. Jakoby, W. B. and Bonner, D. M.: *Kynureninase from Neurospora: purification and properties.* "J. Biol. Chem.", 205:699, 1953.
 43. Weissbach, H.; King, W.; Sjoerdsma, A. and Udenfriend, S.: *Formation of Indole-3-Acetic Acid and Tryptamine in Animals.* "J. Biol. Chem.", 234:81, 1959.
 44. Uchida, M.; Susuki, S. and Ichihara, K.: *Studies on the metabolism of p-hydroxyphenyl pyruvic acid.* "J. Biochem." (Japón), 41:41, 1954.
 45. Goodman, L. S. and Gilman, A.: *The Pharmacological Basis of Therapeutics.* The Mac Millan Co., N. York, 1955, pág. 945 (Edic. 2ª).
 46. Knox, W. E.; En McElroy, W. E. and Glass, B. (Editores). *A Symposium of Amino Acid Metabolism.* The John Hopkins Press, Baltimore, 1955, pág. 836.
 47. Tashian, R. E.: *Phenylpyruvic Acid as a Possible Precursor of o-hydroxyphenyl-acetic Acid.* "Science", 129:1553, 1959.
 48. Medes, G.: *A new error of tyrosine metabolism: tyrosinosis. The intermediary metabolism of tyrosine and phenylalanine.* "Biochem. J.", 26:917, 1932.
 49. Frieden, E. and Martin, A.: *Uptake of Glycine-L-C-14 by connective tissue.* "J. Biol. Chem.", 207:133, 1954.
 50. a) Nettelbladt, E.; Renck, I. und Sandel, B. M.: *Serotonin und metastasierende carcinome.* "Opuscula méd.", 3:31, 1958.
b) Meeroff, M.; Marcos, P. y Skliar, S.: *Serotonina y carcinome.* "Pren. méd. argent.", 45:3687, 1956.
 51. Waalkes, T. H.; Sjoerdsma, A.; Creveling, C. R.; Weissbach, H. and Udenfriend, S.: *Serotonin, norepinephrine and related compounds in bananas.* "Science", 127:648, 1958 (Mar. 21).
 52. Pérez Morales, F.: *Factores emocionales en el lupus eritematoso diseminado.* Comunicación a la Soc. Arg. de Psicología Méd. y Psicoanal., sept. 1958.
 53. Jones, K. K.; Spencer, M. C. and Sánchez, S. A.: *The estimation of the rate of secretion of sebum in man.* "J. Invest. Dermat.", 17:213, 1951.
 54. Wolley, W. E.: Comunicación al Dep. Médico de Abbott Labor. Internat., Chicago.
 55. Hoffer, A.: Sci. Conf. Brain Research Foundation, N. York, 27 enero 1958; "J. Ment. Sci.", 100:29, 1954.
- La hipótesis adrenocrómica de la esquizofrenia. "Acta Neuropsiq. Arg.", 4:355, 1958.
56. Hicks, R. and West, G. B.: *Adrenal cortical hormones and the formation of histamine and 5-hydroxytryptamine.* "Nature", 181:1342, 1958 (Mayo 10).
 57. Syllianco, C. Y. L. and Berg, C. P.: *The effect of riboflavin deficiency upon the metabolism of tryptophan by liver and kidney tissue.* "J. Biol. Chem.", 234:912, 1959.
 58. Snyder, L. H.: *Fifty years of medical genetics.* "Science", 129:7, 1959 (Enero 2).
 - David, P. R. and Snyder, L. H.: *Genetics and disease.* En Proc. 2nd. Nat. Cancer Confer. "Am. Cancer Soc.", N. York, 1954, p. 1128.
 59. Rothlin, E. and Cerletti, A.: *Pharmacology of LSD-25. En Lysergic Acid Diethylamide and Mescaline in Experimental Psychiatry.* Grune and Stratton, N. York, 1956.

Agradecimiento: Los autores de este trabajo quieren dejar constancia de su profundo reconocimiento a las siguientes personas e instituciones por sus enseñanzas, sugerencias, críticas, colaboración práctica y provisión de metabolitos sintéticos de triptófano, tirosina, etc. y aminoácidos así como drogas, solventes, etc. para cromatografía, electroforesis y espectrofotometría:

Profesores Pablo Verdier, Buenos Aires y N. Nishimura, Wakayama Medical College, Japón; doctores P. P. Sanguinetti, Buenos Aires; Marcelo Pagano, Buenos Aires; E. H. Payne, Detroit; M. Gantmacher, Buenos Aires; M. Gaudino, Chicago; F. del Río, Buenos Aires; Mario Moglia y Jorge Moglia, Buenos Aires; señor H. O. Patzer, Buenos Aires; ingeniero Armando A. Adler, Buenos Aires y doctora Antonia Russ, Buenos Aires.

Parke, Davis & Co., Detroit, Estados Unidos; J. A. Geigy y Cia., Basilea, Suiza; Abbott Laboratories, North Chicago, Ill., E. Unidos; Laboratorio Endocrínico Argentino (ELEA), Buenos Aires; Hoffman-LaRoche, Basilea, Suiza; Sandoz Ltda., Basilea, Suiza y Laboratorios Ocea, Buenos Aires.