

REVISTA

de la

FACULTAD DE MEDICINA

CONDICIONES PARA LA PUBLICACION DE TRABAJOS

1. Los artículos deben venir escritos en papel tamaño carta blanco, a máquina, con tinta negra y doble espacio, con buen margen.
2. Después del título debe ponerse el nombre del autor, y luego el de los colaboradores, con sus respectivos títulos académicos.
3. Al final del artículo debe ponerse el nombre del autor, con su dirección y la fecha en que se remite el artículo.
4. La bibliografía debe escribirse, según las normas internacionales, así:
 - a) Apellido del autor en mayúsculas, e iniciales de su nombre; lo mismo para los colaboradores.
 - b) Título completo del artículo.
 - c) En caso de revista: I) Abreviatura del nombre de ella, según la clave internacional, o su nombre completo. II) Número del volumen en caracteres arábigos, seguido de dos puntos (:). III) Numeración de las páginas que abarca el artículo separadas por un guión. IV) Después de coma (,), año de la publicación.
 - d) En caso de libro: I) Título de él. II) Capítulo y página de la cita. III) Nombre de la Casa Editorial. IV) Lugar de la edición. V) Año de la edición.Las referencias deben figurar en orden de aparición en el texto.
5. En cada ilustración o cuadro debe indicarse claramente su posición correcta, así como el sitio que debe ocupar dentro del texto y su número de orden, junto con su leyenda.
6. Todo trabajo debe tener al final un resumen que contenga los puntos fundamentales de lo expuesto, con traducción en inglés.
7. La Revista costeará 50 separatas para los autores.
8. La Revista no adquiere ninguna responsabilidad por las ideas expuestas por los autores.
9. Los originales de los trabajos rechazados serán devueltos al autor.

ORGANO DE DIVULGACION DE:

**FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL
CENTRO HOSPITALARIO DE SAN JUAN DE DIOS.
HOSPITAL UNIVERSITARIO PEDIATRICO DE LA MISERICORDIA**

7

REVISTA

de la

FACULTAD DE MEDICINA

VOLUMEN XXXVIII

Nº 2

ABRIL MAYO JUNIO 1972

Tarifa para Libros y Revistas editados en Colombia: Permiso Nº 112 Administración Postal.

Dr. CARLOS J. CUERVO TRUJILLO
Decano Encargado

DIRECTORES ASOCIADOS:

Dr. Gerardo Aristizábal Aristizábal
Dr. Milton Argüello Jiménez
Dr. Oscar Angel Sepúlveda

CONSEJO DIRECTIVO DE LA FACULTAD:

Dr. Carlos J. Cuervo Trujillo
Dr. Jaime Campos G.
Dr. Alfredo Rubiano C.
Dr. Gerardo López Narváez

Decano Encargado
Representante Profesorado
Representante del Consejo Universitario
Secretario Académico

HOSPITALES UNIVERSITARIOS:

Dr. Jorge Castellanos Robayo
Dr. Rafael Barberi Zamorano

Director Centro Hospitalario
San Juan de Dios
Director Hospital Pediátrico
de la Misericordia

DIRECTORES DE DEPARTAMENTO:

Dr. Jaime Escobar Triana
Dr. Ramsés Hakim
Dr. Rafael Ramírez Merchán
Dr. Eduardo Cortés Mendoza
Dr. Guillermo Vásquez
Dr. Alfredo Rubiano Caballero
Dr. Egon Lichtemberger
Dr. Ernesto Plata Rueda
Dr. Jorge Pardo Ruiz
Dr. Guillermo Llanos Bejarano

Cirugía
Ciencias Fisiológicas
Gineco-obstetricia
Medicina Interna
Microbiología y Parasitología
Morfología
Patología
Pediatría
Rehabilitación
Salud para la Comunidad

REVISTA

de la

FACULTAD DE MEDICINA

VOLUMEN XXXVIII

Nº 2

ABRIL MAYO JUNIO 1972

DIRECCION:

SECCION PUBLICACIONES
CENTRO HOSPITALARIO SAN JUAN DE DIOS
APARTADO AEREO Nº 7648
BOGOTA - COLOMBIA

CONTENIDO

	Págs.
Editorial	
Estudios experimentales en células cultivadas del Linfoma de Burkitt. Doctor Julio Enrique Ospina	93
Angeitis Necrotizante Sistémica no Supurativa. Doctores Gabriel Toro G., Odilio Méndez S., Hernán Alvarado C., Egon Lichtenberger, Jaime Cantillo G.	117
Inmuno-electro-precipitación. Doctores Miguel Guzmán, Ernesto Bar- bosa, Srta. Elizabeth Castañeda	135
Obtención de suero mono-específico anti-IgG, preparado con antíge- nos purificados por electro-enfoque. Doctores Miguel A. Guzmán, Ernesto Barbosa	143
Síndrome de Turner. Doctores Emilio Yunis T., <u>Emilia de De la Cruz</u> , Germán Niño Murcia, Señorita Myriam Leivovici	147



PROFESOR PEDRO JOSE ALMANZAR

Editorial

Al fallecer el Profesor Pedro José Almanzar Vargas, ha desaparecido uno de los docentes de la Facultad de Medicina más egregios y caballerosos de una época gloriosa de la Escuela.

Nació en Bogotá en el año de 1901 y recibió su título de Doctor en Medicina en 1927. Aún antes de terminar la carrera ya se encontraba dedicado al gran mundo de la investigación en especial de las Bacterias que fueron sus grandes compañeras. Una vez graduado se dedicó a la docencia a la cual estuvo vinculado algo más de 35 años. En la facultad de Medicina de la Universidad Nacional, ocupó el cargo de profesor Titular de Bacteriología desde 1936 y luego la Universidad lo honró con el título de Profesor Honorario Emérito. Además de sus servicios en la Universidad como docente fue el representante de los Profesores en el Consejo Directivo de la Facultad.

Fuera del ambiente de la Universidad Nacional fue docente de la Facultad de Medicina de la Universidad Javeriana. Ocupó el cargo de Director Científico del Instituto Nacional de Higiene Samper Martínez y del Hospital de San Carlos.

Miembro de número y Presidente de la Academia Nacional de Medicina. Miembro de la academia de Medicina de Medellín. Miembro de la Asociación Latino Americana de Academias de Medicina,, de la Asociación americana de medicina del tórax, tuberculosis y Salud Pública, de la Sociedad Francesa de Patología exótica y alguno de los premios y honores recibidos es el de Gran oficial de la Estrella NOIRE de la República Francesa.

Dejó el Profesor Almanzar importantes artículos científicos además del recuerdo de un gran docente y caballero.

Falleció en Bogotá el día 9 de junio de 1972.

NUEVOS MEDICOS

En Bogotá, a partir de las 2 y 30 de la tarde el día 15 de junio de 1972, se llevó a cabo en el Teatro de Colón el acto académico para otorgar el Grado de Doctor en Medicina y Cirugía a los alumnos cuya lista se consigna en esta misma Acta, quienes cursaron completamente el Plan de Estudios de la Facultad, cumplieron con el Año de Internado Rotatorio y con todos los demás requisitos exigidos por los Reglamentos de la Universidad Nacional para el efecto, y previa autorización acordada por el Consejo Directivo de la Facultad en su sesión del día 23 de febrero (Acta N° 7/72).

Presidió el acto el señor Decano de la Facultad de Medicina, Profesor CARLOS CUERVO TRUJILLO acompañado por miembros del personal docente de la misma y actuó como secretario el Secretario Académico de la Facultad, Profesor GERARDO LOPEZ NARVAEZ.

Leídos el Orden del Día y la lista de los señores graduados, el señor Decano les tomó el juramento de rigor y prestado este por ellos en forma solemne, les confirió en nombre de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia el GRADO DE DOCTOR EN MEDICINA Y CIRUGIA e hizo entrega personal del TITULO que acredita su idoneidad profesional. Recibió el Diploma de Grado de Honor el Dr. CARLOS ARMANDO GUAQUETA HEMELBERG; recibieron el pergamino del "Premio Daniel Vega O." los doctores ERNESTO BLANCO DURAN y FRANCISCO GROOT SAENZ.

JOSE GONZALO ARIAS SUAREZ
OMAR JOAQUIN AGUDELO SUAREZ
JOSE JEREMIAS ALARCON ROBAYO
ALFONSO ANGULO PINEDO
EDDA MARINA AFANADOR VACA
RAFAEL OCTAVIO ALVAREZ URIBE
LUIS FRANCISCO BARRERO LOPEZ
HARRY BIRBRAGHER VINKEL
GRACE BRITTON SJONGREEN
ALBERTO BONELLS GALINDO
ALVARO ENRIQUE GRANADOS DIAZ
ERNESTO BLANCO DURAN
LUIS EDUARDO BILBAO VILARETE
MIGUEL ANGEL BAQUERO BERMUDEZ
RAFAEL ENRIQUE BENEDETTI T.
JAIRO FERNANDO CEPEDA DIAZ
GABRIEL MARIA CARO GONGALEZ
LUIS FRANCISCO CASTILLO BERNAL
MYRIAM ALICIA GONZALEZ CORREDOR
EMILIA CABALLERO MORENO
LUIS GUILLERMO CRESPO OSORIO
CESAR ANTERO CASTRO CALIMAN
HERNANDO CHARRY COLLAZOS
LISANDRO ANTONIO DURAN ROBLES
ANDRES DUARTE
DIEGO FRANCO MEJIA
MARCO AURELIO GUERRERO VILLAMIZAR
AQUILINO GAITAN CASTRO
CARLOS ARMANDO GUAQUETA HEMELBERG
ZILIA STELLA GONZALEZ CASTRO
FRANCISCO JOSE GROOT SAENZ
MARTHA M. GALLO GOMEZ
JOSE IVAN HERRERA MARTINEZ
RAFAEL RICARDO ENRIQUEZ JIMENEZ

GABRIEL JIMENEZ ECHEVERRI
JUAN FERNANDO JARAMILLO RODRIGUEZ
TULIO BERARDO JARAMILLO RENDON
BLANCA LILIA E. LESMES RODRIGUEZ
RICARDO LOPEZ GIL
GUSTAVO MENDIETA VILLAMIZER
JAIME MORALES AGUILAR
EDUARDO MUNEVAR GALINDO
JORGE ELIECER MARQUEZ ESCOBAR
NADIM MAIDA ABDENUR
GABRIELA MONCALEANO CALA
RUFINO MACIAS ALVIRA
JOSE CECILIO MARTINEZ CACERES
FRANCISCO LUIS MOLINOS VELA
ESTEBAN CESAR JESUS NUMA ANGARITA
LAURA PIEDAD OTALORA GONZALEZ
MANUEL AUGUSTO ORDONEZ MORA
ORLANDO ULISES ORTIZ VILLARRAGA
ALVARO RESTREPO MERINO
CAYETANO ROMERO PARRA
JUAN ROBERTO SALCEDO ANGULO
SONIA SANCHEZ LOPEZ
JESUS FERNANDO SARMIENTO GONZALEZ
ALVARO FAUSTINO SUAREZ CHAPARRO
FERNANDO TEJADA FLOREZ
IVAN GUILLERMO PARRA BOSSA
JAIME TORO PELAEZ
GLORIA MARINA ULLOA NINO
BENJAMIN USECHE LOPEZ
JORGE DE J. ZULUAGA GOMEZ
JAIME FIGUEROA QUINONES
SOFIA GUERRA DE FIGUEROA
CARLOS HUMBERTO YANEZ CARVAJAL
JOSE VICENTE CONTRERAS GOMEZ

A continuación, y en nombre del grupo de graduados, dio lectura a la Promesa del Médico la doctora EMILIA CABALLERO MORENO.

Seguidamente el señor Decano, llevando la vocería de la Facultad se dirigió a los graduados para expresarles sus cordiales felicitaciones, formular sus mejores votos por sus éxitos en el ejercicio de la profesión y para exhortarlos a que prolonguen e incrementen las nobles tradiciones de la Medicina mediante su práctica siempre ética y científica.

NUESTRAS FELICITACIONES A LOS NUEVOS EGRESADOS

Estudios experimentales en células cultivadas del Linfoma de Burkitt *

Doctor JULIO ENRIQUE OSPINA **

INTRODUCCION

La descripción de tumor de Burkitt en el Africa, por Burkitt en 1958¹ y O'Connor en 1961² despertó gran atención por su peculiar distribución geográfica, ya que esta hizo sospechar que la enfermedad fuera debida a un factor infeccioso transmitido posiblemente por un artropodo. La demostración hecha por Epstein y Barr, de partículas virales en biopsias de casos africanos³ y de Nueva Guinea⁴ en los años de 1964 y 1967 respectivamente, contribuyó a que muchos estudios experimentales relacionados con el cáncer se focalizaran en este tumor. A partir del año de 1964 estos virus se denominaron de Epstein y Barr o virus EB, en honor a los descubridores. En el mismo año Pulvertaft⁵ consiguió establecer cultivos celulares de biopsias de un caso africano en las cuales se descubrieron los mismos virus. Los cultivos celulares sirvieron de base para diversos estudios inmunológicos como los hechos por Henle y colaboradores en 1966⁶ quienes com-

probaron que los virus presentes en las células inducían la formación de antígenos específicos, los cuales no tenían reacciones cruzadas con ningún tipo conocido de virus Herpes, con los cuales fueron relacionados los virus EB.

En el año de 1967 Klein y colaboradores⁷ demostraron la síntesis de otro antígeno dependiente de las células tumorales y no de los virus formados en ella pero también específico de la enfermedad.

Otro importante hallazgo fue hecho por Henle en el año de 1968⁸ al descubrir la relación entre el virus EB y la mononucleosis infecciosa. Desde el establecimiento de los primeros cultivos celulares a 37°C, se vio que solamente del 0.5% al 10% de las células tenían virus. Para resolver la dificultad que esto implicaba en su purificación, Hinuma y sus colaboradores en el año de 1967⁹ experimentaron sobre los efectos de diversas temperaturas en la síntesis del virus. Comprobaron que a 33°C y bajo condiciones de desnutrición total se observaba síntesis viral en un 30% o 40% de células. La presencia de los virus se estableció por microscopía electrónica¹⁰ y técnicas inmunofluorescentes para el antígeno descrito por los Henle.

* Trabajo hecho en el Laboratorio de Microscopía Electrónica y Cultivo de Tejidos, Sección de Investigación, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá.

** Jefe del Grupo de Microscopía Electrónica, Instituto Nacional de Cancerología. Profesor asistente de Patología. Facultad de Medicina, Universidad Nacional.

La descripción de casos de tumor de Burkitt en Colombia por Beltrán y Correa¹¹ y¹² en el año de 1966 y en el Brasil por Fagundes en 1968¹³ permitió iniciar estudios biológicos tendientes a comprobar en pacientes Latinoamericanos con tumor de Burkitt, la presencia de virus similares a los descritos en los casos africanos.

En el presente trabajo se plantean los siguientes interrogantes:

1. ¿Qué tipo de alteración metabólica sufren las células de este tumor cuando son cultivadas a 33°C? ¿Serán sus características inmunológicas iguales a las observadas en los cultivos mantenidos a 37°C?

2. ¿Contienen los tumores de Burkitt colombianos virus EB y reaccionan sus cultivos celulares en forma similar a los africanos, ante el cambio de temperatura?

MATERIAL Y METODOS

Células Africanas

Se usó la línea celular HRIK derivada por Hinuma⁴ de los cultivos establecidos por Pulvertaft⁵. Como medio de cultivo se empleó MEM (Minimum Essential Medium de Eagle)¹⁴ suplementando con un 20% de suero fetal de ternero y 20 ug de L-serina, 100 ug de piruvato de sodio, 100 ug de estreptomycin, 100 unidades de penicilina por ml. Esta mezcla se denominó MEM. Las células se incubaron en concentraciones de 1.000.000 por ml, a 37° y 33°C en una incubadora marca National. El

crecimiento celular se controló cada 2 o 3 días por medio de recuentos y coloración con azul de tripano. Se le administró en nuevo medio de cultivo los mismos intervalos de tiempo, a las células a 37°. En lo referente a las técnicas inmunofluorescentes, los frotis celulares se prepararon en la siguiente forma:

1. Se lavaron las células con PBS (Tampón Fosfato Salino) a un pH de 7.2.

2. Se centrifugó el material a 1000 rpm. por 10 minutos y el sedimento se disolvió en el mismo tampón, en concentraciones de 500.000 y 1.000.000 de células en volúmenes de 0.2 ml.

3. Se colocaron gotas del mismo material sobre láminas de vidrio y se fijaron en acetona durante 10 minutos después de haberlas secado a temperatura ambiente.

4. Las células se colorearon con isotiocinato de fluoresceína combinado con suero específico (1;10), por medio del método directo. En algunos experimentos se siguió el método indirecto para el estudio de la inmunoglobulinas G y M, por medio del uso de suero de carnero antihumano como segundo reactivo.

En cada lámina se contaron entre 500 y 700 células usándose tanto la luz ultravioleta como blanca. El porcentaje de células positivas se calculó dividiendo el número de células fluorescentes por el número total de células examinadas.

Células Colombianas

Casos clínicos.

Caso N° 1 En un niño de 4 años, natural y procedente de Sogamoso, consultó a una Institución hospitalaria por presentar una masa de 8 x 5 cms. en la región submaxilar izquierda. El tumor tenía 3 meses de evolución y era de rápido crecimiento. Una biopsia del mismo se diagnosticó como linfoma de Burkitt. No se encontraron células inmaduras en sangre periférica. El paciente fue tratado con radioterapia sobre la zona tumoral y metotrexate. Poco antes de su muerte presentó ictericia obstructiva. La autopsia reveló un tumor retroperitoneal de 20 x 15 x 15 cms. el cual reemplazaba la casi totalidad del páncreas y comprimía el hilio hepático. (Fot. 1). También se encontró infiltración tumoral en ambos riñones.

Del tumor retroperitoneal se extrajo tejido para cultivos celulares y estudios al microscopio electrónico.

Caso N° 2. Una niña de 6 años de edad, natural y procedente de Bogotá, consultó a su médico por presentar adenopatías cervicales de 2 meses de evolución. Le recetaron antibióticos y drogas anti-inflamatorias. Dos meses más tarde presentó una masa en la región cervical derecha de 7 x 5 cms. El examen físico reveló otra masa en la región pélvica. Se le hizo una laparotomía exploradora, encontrándose un tumor de 6 cms. en el ovario derecho y compromiso tumoral del izquierdo. Se le practicó ooforectomía bilateral y biopsia de la masa cervical. Del tumor ovárico derecho se extrajo tejido para cultivos celulares y microscopía electrónica. El examen histopatológico de los tejidos reveló un linfoma de Burkitt. No se encontraron células inmaduras en sangre periférica.

La paciente fue tratada con radioterapia y ciclofosfamida sin éxito. Falleció en insuficiencia respiratoria y no se le practicó autopsia.

Establecimiento de los cultivos celulares.

Los tejidos extraídos bajo condiciones asépticas se lavaron en CMF-PBS (Tampón Fosfato Salino libre de Calcio y Magnesio). Fueron reducidos a fragmentos de 1 mm. y digeridos con tripsina según la técnica de Merchant, Kahn y Murphy.¹⁸

Las células así obtenidas se incubaron en frascos MA de Microbiological Associates, en concentraciones que variaron entre 250.000 y 500.000 por ml. de MEMEM, a 37°C. El crecimiento celular se controló en la forma ya mencionada y una vez establecida la cepa celular, se procedió a cultivar parte de ella a 33°C.

Microscopía electrónica

Los cultivos se estudiaron con intervalos de 3 días. Biopsias y cultivos se fijaron en glutaraldehído¹⁹ disuelto en solución salina de Hank²⁰ en una concentración del 3%, a 4°C y durante 5 horas. Se usó tetróxido de osmio¹⁸ como post-fijador, en concentración del 2% en la misma solución salina y bajo condiciones similares a las del glutaraldehído. Los tejidos fueron deshidratados según las técnicas descritas para microscopía electrónica¹⁹ e incluidos en Epon-Araldita según el método de Mollenhauer²⁰. Los cortes se llevaron a cabo en un ultramicrotomo MT2 Porter-Blum y el material obtenido, extendido sobre rejillas recubiertas de colodión, se impregnó con acetato de uranilo²¹ y citrato de plomo²². Los

tejidos fueron examinados en un microscopio electrónico JEM 7A con un voltaje de aceleración de 80 kilovoltios.

RESULTADOS

Células Africanas.

Un 8% de las células incubadas a 37°C presentaron inmunofluorescencia positiva para el antígeno de Henle (o sea la síntesis de Virus).

El 90% de las células a esta temperatura, estaban vivas. Estas cifras fueron consideradas como las del tiempo 0, al inicio de los experimentos. Los cultivos a 33°C presentaron un continuo aumento del número de células fluorescentes, las cuales fueron un 38% del total al octavo día. Por el contrario, el porcentaje de células vivas descendió hasta alcanzar niveles del 35% en el mismo día.

En esta fase, la fluorescencia celular era de tipo difuso, observándose tanto alrededor del núcleo como del citoplasma de la célula. Los bordes celulares eran fácilmente identificables sin que se observara un efecto citopático generalizado (Fotos 2 y 3).

Las células inmunofluorescentes ascendieron hasta el 40% en el día 14 del experimento, siendo las células vivas apenas el 28% del total. La inmunofluorescencia observada era más del tipo puntiforme aunque no bien delimitada. Las células mostraron avanzado estado de citólisis, caracterizado por bordes nucleares y citoplasmáticos borrosos y una alta transparencia celular (Fotos 4 y 5).

Los hallazgos de Hinuma^{*} se confirmaron en esta forma.

Con el propósito de determinar si alguna de estas células se adaptaban a las nuevas condiciones de crecimiento (33°C) y estudiar sus características inmunológicas, se inició la nueva fase del experimento. Las mismas células fueron centrifugadas a bajas revoluciones (1000 rpm. por 10 minutos), los sedimentos celulares lavados en la forma descrita en material y métodos y los nuevos cultivos alimentados con MEMEM. Se mantuvo la misma temperatura del cultivo (33°C) y su crecimiento y síntesis viral se controlaron con intervalos de 4 días, durante 130 días.

En el día 70 las células comenzaron a presentar evidencias de adaptación a sus condiciones ambientales (33°C). El porcentaje de células vivas fue del 80% y el de células inmunofluorescentes positivas del 8, en el día 97 del experimento. En el día 106, la positividad para inmunofluorescencia descendió al 10% y las células vivas representaron el 88% del total. (Gráf. 1). Como se trataba de una cepa celular libre de virus (negativa para las técnicas inmunofluorescentes que determinaron el antígeno de Henle^{*} se la denominó JOS con el propósito de diferenciarla de la cepa original HRIK de Hinuma.^{*} Se pensó entonces en invertir las condiciones del experimento y cultivar parte de las nuevas células adaptadas, a 37°C. Estas células se denominaron J-116 (37°C) para diferenciarlas de las de JOS (33°).

LINFOMA DE BURKITT - PRODUCCION DE UNA LINEA CELULAR LIBRE DE VIRUS.

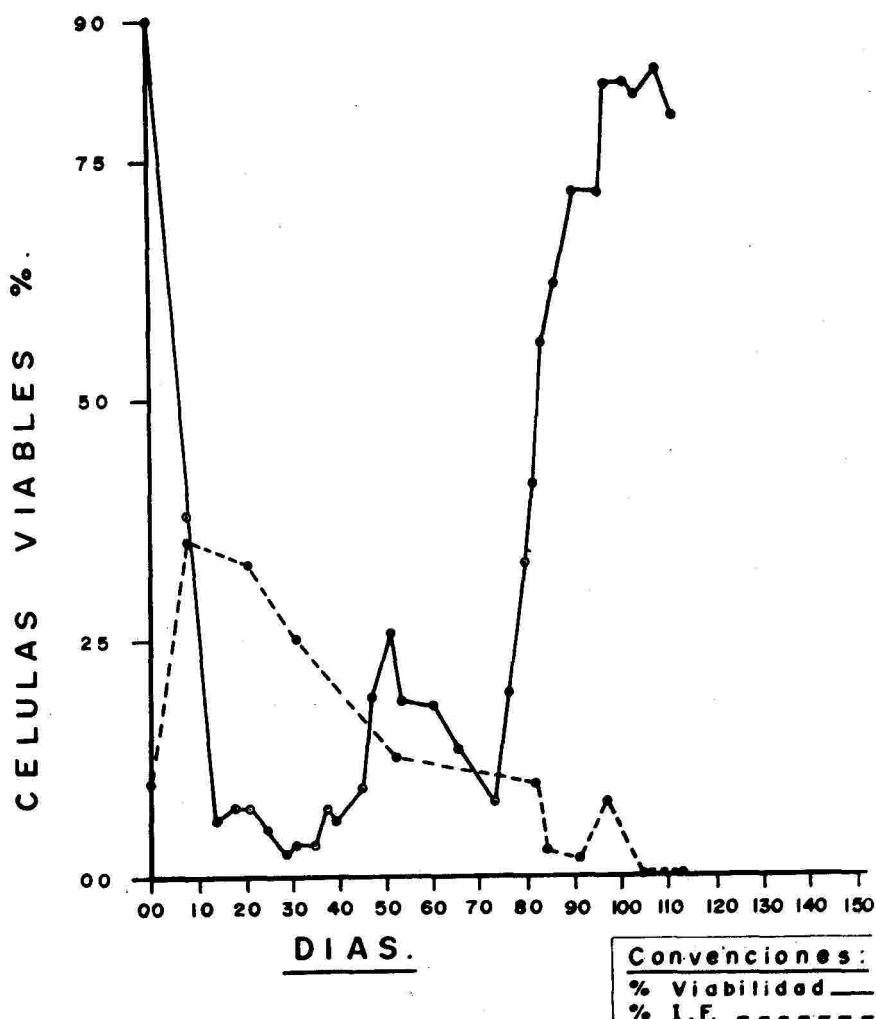


Gráfico 1

Sobre el borde izquierdo se anotan los porcentajes de las células vivas (viables). La línea inferior marca los días de duración de los cultivos. La línea continua indica el número de células vivas y la de rayas el número de células fluorescentes o sea con virus. Se nota que el nivel más alto de inmunofluorescencia corresponde a uno de los porcentajes más bajos de células vivas.

Diversos experimentos tendientes a inducir síntesis de virus EB por parte de las nuevas células demostraron la incapacidad de éstas para hacerlo.

En sus estudios, Hinuma⁶ así como Henle⁶ comprobaron que las células HR1K producen solamente inmunoglobulina M (IgM). Pensando en una posible relación entre la síntesis viral y la producción de ciertas inmunoglobulinas, se estudió si las células JOS (33°C) así como las J-116 (37°C) continuaban presentando aquellas características. Se iniciaron cultivos en idénticas condiciones, de todas las células mencionadas, las cuales se controlaron del día 0 al 10.

Las células HR1K fueron negativas para IgG y positivas para IgM la cual alcanzó su nivel máximo en el día 3 (10.9%).

Las células JOS presentaron altos niveles de IgG desde el día 0, con un marcado aumento en el día 3 (64.3%) y descenso continuo a partir de dicho día hasta el día 10 (9.8%). Los niveles de IgM fueron siempre más altos que en las células HR1K aunque también descendieron progresivamente durante todas las fases del experimento (64.2%) en el día 0 y 11.1% en el día 10).

Lo mismo se observó en las células J-116 aunque los porcentajes de ambas inmunoglobulinas fueron siempre más altos en las células incubadas a la temperatura más baja (JOS). (Gráf. 2).

Llamó la atención el continuo descenso de las inmunoglobulinas durante los diversos días de la experimentación y aunque no se observaron virus, se pensó que podría ser una consecuencia de cambios sufridos por las células los cuales precederían a la síntesis viral.

Con esto en mente, se experimentó sobre el efecto de la infección del virus EB, a 37°C y 33°C, en las células JOS y J-116. Se usó como control la cepa celular 64-10 establecida por Iwakata y Grace en 1964²⁴ de una leucemia mieloblástica. Estas células se escogieron por su probada capacidad de ser infectadas con el virus EB.²⁴

Las células 64-10 con y sin virus EB, fueron negativas para IgG durante todo el experimento y en las dos temperaturas. Sus niveles de fluorescencia, indicativos de la infección de virus EB, fueron más altos a 33°C. Los datos recogidos tanto de las células JOS como de las J-116 demostraron claramente que la temperatura más baja (33°C) aumenta la síntesis de virus. De estos datos también se pudo concluir que la síntesis de IgG ocurría en forma inversa a la síntesis viral. Las células sin virus EB (sEB), presentaron siempre niveles de IgG sensiblemente más altos que los de las células infectadas.

A partir del día 7 no fue posible estudiar la IgG por causa de sus bajos niveles (Gráf. 3).

PRODUCCION DE INMUNOGLOBULINAS EN VARIAS LINEAS CELULARES

DIA	HRIK		JOSR2K		J-116	
	IGG	IGM	IGG	IGM	IGG	IGM
0	0%	3.7%	40.9%	64.2%	8.0%	10.6%
3	0%	10.9%	64.3%	47.3%	28.7%	44.5%
5	0%	No Detect.	53.2%	20.4%	44.0%	25.8%
7	0%	" "	19.2%	23.9%	15.2%	6.8%
10	0%	" "	9.8%	11.1%	11.5%	26.2%

Nº 2. Resume la producción de inmunoglobulinas en las diversas líneas celulares estudiadas.

HRIK: Clona de Hinuma derivada del linfoma de Burkitt.

JOS: Línea celular derivada de la HRIK y mantenida a 33°C.

J-116: Corresponde a la línea celular JOS cultivada a 37°C.

Se observa que tanto la JOS como la J-116 sintetizan IgG, hecho que las diferencia de las células que las originaron (HRIK). También sus niveles de IGM son sensiblemente más altos.

INFECTIVIDAD DE VIRUS DE BURKITT EN TEMPERATURAS DIVERSAS

	37°C				33°C			
	4 DIAS		7 DIAS		4 DIAS		7 DIAS	
	I. F.	IGG	I. F.	IGG	I. F.	I. F.	IGG	I. F.
64-10 c EB	13.7%	0.0%	5.5%	—	17.0%	0.0%	18.3%	—
64-10 s EB	0.0%	0.0%	0.0%	—	0.0%	0.0%	0.0%	—
JOS c EB	13.0%	4.4%	13.6%	—	46.7%	10.4%	20.7%	—
JOS s EB	0.0%	16.9%	0.0%	—	0.0%	30.9%	0.0%	—
J-116 c EB	28.1%	7.8%	22.5%	—	46.3%	8.7%	25.7%	—
J-116 s EB	0.0%	24.1%	0.0%	—	0.0%	44.7%	0.0%	—

Nº 3. Resume la infectividad del virus EB a 37°C y 33°C.

Las células 64-10 (leucemia mieloblástica) se usaron como control.

Los datos indican fenómenos de competencia entre la síntesis de IgG y la infección por virus. También se puede observar que la temperatura más baja aumenta la concentración de los virus.

I. F. Inmunofluorescencia indicativa de infección viral.

IgG. Porcentaje de inmunoglobulina G en las células infectadas.

cEB. Células infectadas con virus EB.

sEB. Células no infectadas.

Células colombianas

Los hallazgos morfológicos fueron similares en ambos casos.

La microscopía de luz mostró el cuadro típico de linfoma de Burkitt.

Las células eran redondas, con núcleos ovoides y nucleolos prominentes. El citoplasma era moderadamente basófilo. En medio de las células tumorales se vieron numerosos histiocitos no neoplásicos. El conjunto presentó el llamado cuadro del cielo estrellado (Foto 6).

Al microscopio electrónico se encontró que el tumor estaba compuesto por células con núcleos redondos u ovales que presentaban nucleolos en número de 2 o 3 y con abundante eucromatina. Los citoplasmas mostraron mitocondrias alargadas o redondas, generalmente polarizadas en un extremo de la célula. El retículo endoplasmático era escaso o ausente y se vieron abundantes poliribosomas libres en el citoplasma celular. En este último se observaron también numerosas vacuolas así como vesículas y túbulos característicos de aparatos de Golgi.

No se encontró retículo endoplasmático liso. (Fotos 7, 8, 9). Estas células se clasificaron como del tipo linforeticular indiferenciado. En los dos casos se encontraron virus de forma cúbica. Algunos con sus capside vacías, otros con nucleoides densos impregnados con uranilo lo cual comprobó su composición por

DNA. Estos virus midieron en promedio 120 milimicras.

Se estudió el crecimiento de estos virus en cultivos celulares. Los del caso N° 1 se descartaron por contaminación bacteriana. Los del caso N° 2 crecieron satisfactoriamente y fueron mantenidos vivos durante 95 días. A 37°C se vio síntesis intranuclear de los virus y maduración posterior de los mismos en el citoplasma celular. Allí se rodearon de membranas sintetizadas por la célula, para ser posteriormente transportados en el interior de vesículas hasta los bordes citoplasmáticos para su posterior eliminación en el espacio exterior. Todo este proceso se presentó entre los días 6 y 10 del cultivo (Fotos 10, 11, 12).

A 33°C las células reaccionaron en forma similar a sus homólogas africanas. A partir del día 12 se notó aumento en el número de partículas virales intracelulares. Este se correlacionó con severos fenómenos degenerativos indicativos de muerte celular. Tanto los núcleos como los citoplasmas se volvieron casi transparentes notándose en los últimos degeneración mitocondrial, ausencia de ribosomas y numerosas vesículas. Otras células mostraron disolución de las membranas nucleares y extravasación de material nuclear al citoplasma. En la membrana celular se vieron digitaciones prominentes características de fenómenos citopáticos (Fotos 13, 14, 15).

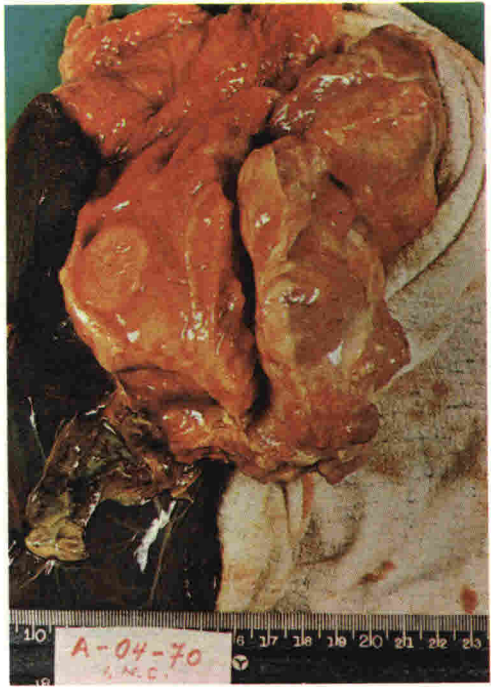


Fig. 1 — Caso Colombiano N° 1. Se puede observar la cara inferior del hígado sobre la parte izquierda. El duodeno está abierto y presenta un nódulo tumoral. A la derecha de este se ve el colédoco dilatado. El corte corresponde al tumor que infiltra la mayor parte del páncreas.

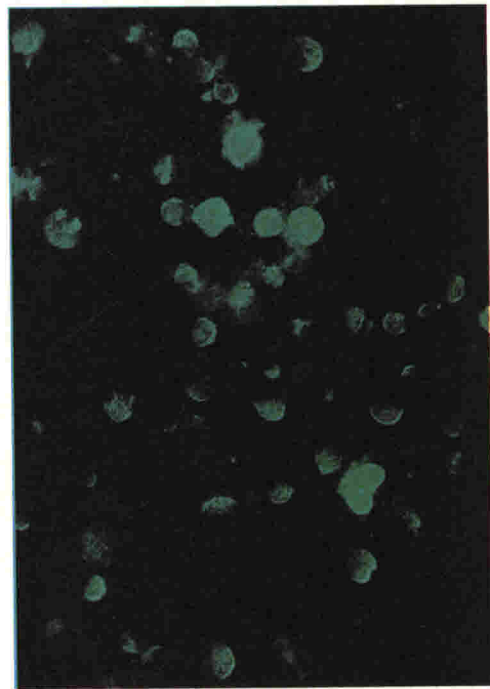


Fig. 2 — Células cultivadas del tumor estudiadas por la técnica de anticuerpos fluorescentes específicos para el antígeno de Henle (indicativo de la síntesis de virus EB.). La fluorescencia es difusa y ocasionalmente puntiforme. Los bordes celulares son nítidos. Se pueden ver bandas brillantes en células parcialmente fluorescentes. Día 8 del cultivo a 33°C de las células africanas. $\times 400$.

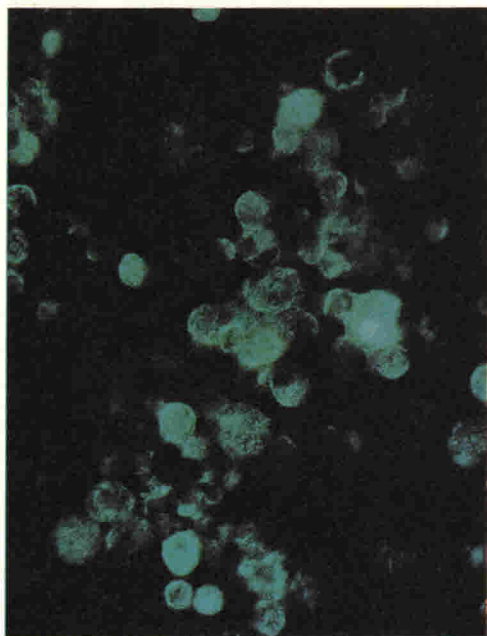


Fig. 3 — Día 8 del cultivo a 33°C de las células africanas, $\times 400$.

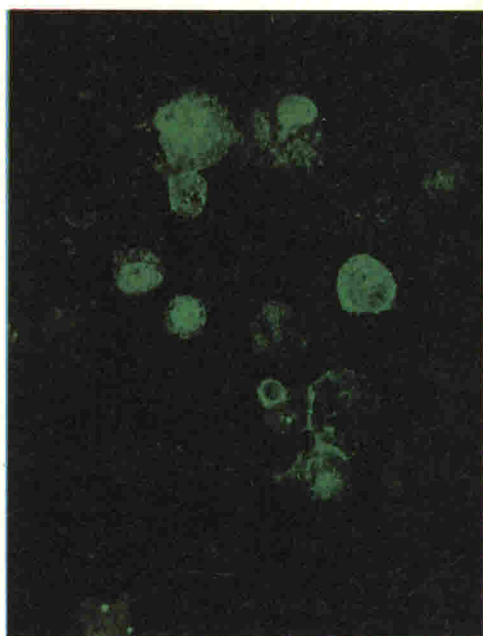


Fig. 4 — La fluorescencia es difusa. Llama la atención que las células tienen bordes borrosos y en algunas áreas son casi transparentes, presentando avanzado estado citopático. Día 14 del cultivo a 33°C de las células africanas, $\times 400$.

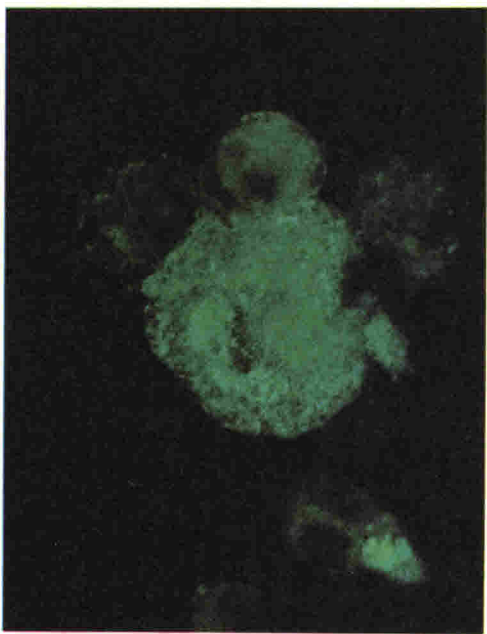


Fig. 5 — Se ve una de las células de la fase anterior con un mayor aumento. Nótese los bordes borrosos tanto del citoplasma como del núcleo. Día 14 del cultivo a 33°C de las células africanas, $\times 1000$.

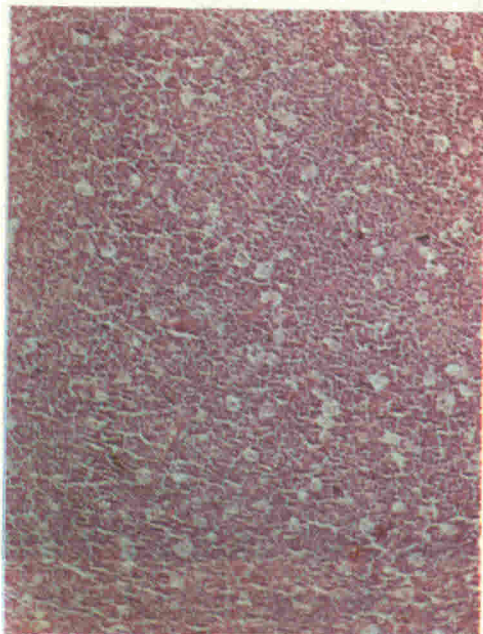


Fig. 6 — Fotografía a un bajo aumento del corte de la biopsia del caso N° 2. El aspecto morfológico del caso N° 1 es similar a este. El cuadro es muy monomórfico. Las células tumorales presentan núcleos redondos. Entre ellas se ven abundantes histiocitos no neoplásicos. Este aspecto corresponde al llamado cielo estrellado que se ve en esta enfermedad aunque no es patognomónico de ella.



Foto 7

Fotografía al microscopio electrónico de la biopsia del caso colombiano N° 1. Se observa una buena relación nucleo-citoplasmática. Los núcleos son ovales y compuestos por eucromatina. Nótese 3 nucleolos en una célula. En el citoplasma no se observa retículo-endoplasmático. Las zonas de síntesis proteica están representadas por numerosos polirribosomas libres. Nótese mitocondrias localizadas sobre uno de los polos de la célula. También se ven las vesículas. x 4700. N: núcleo. C: citoplasma.

M: mitocondrias



Foto 8

Corresponde a las mismas células de la fotografía anterior. En la parte central se ven los túbulos y vesículas característicos del sistema de Golgi. En la parte superior se ven membranas citoplasmáticas libres de ribosomas. x 2100. C: Sistema de Golgi.

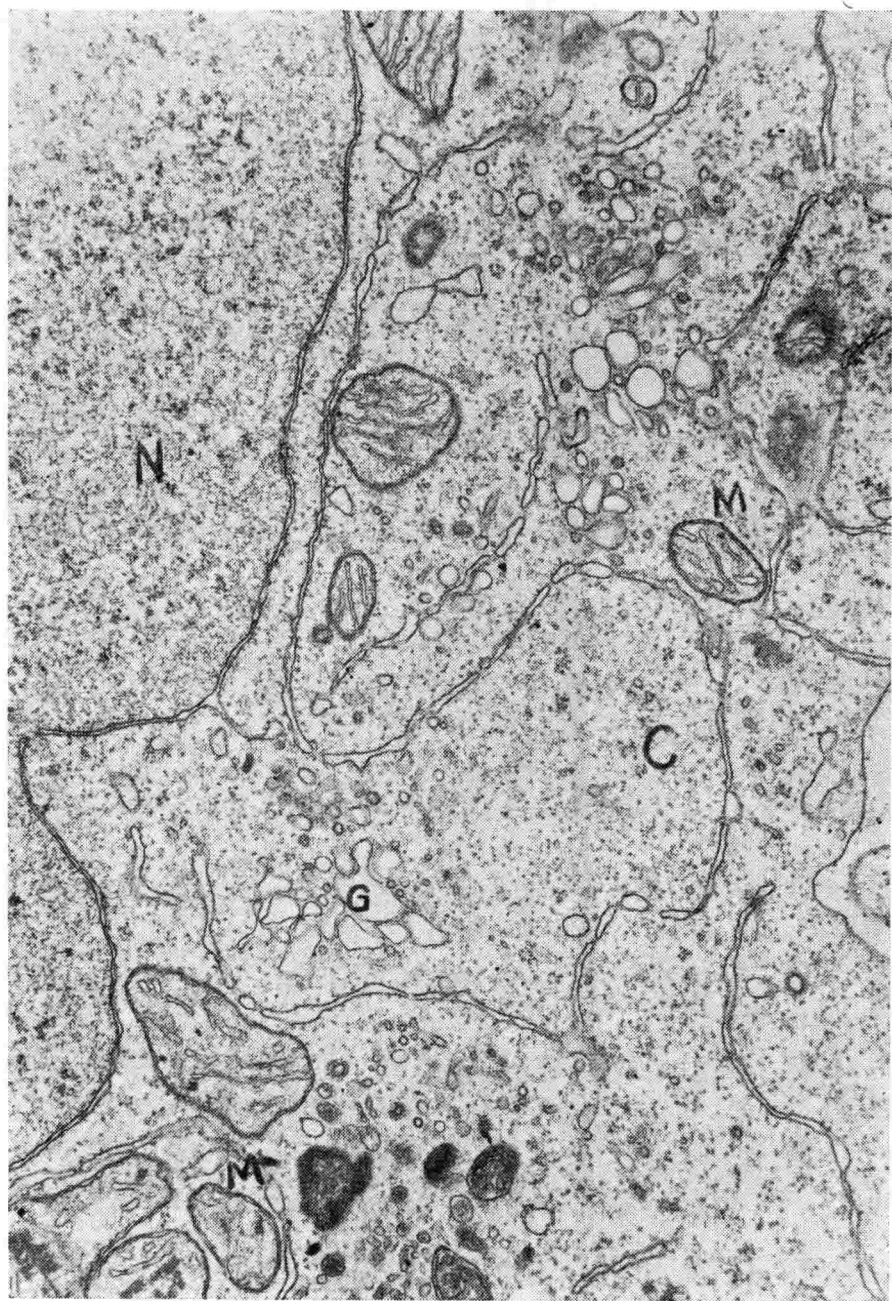


Foto 9

Corresponde a las mismas células de las fotografías anteriores. A la izquierda se ve el núcleo con sus membranas bien definidas, las cuales presentan ocasionales proyecciones hacia el citoplasma. Se ven diversos sistemas de Golgi y mitocondrias. Los polirribosomas son abundantes. x 9500. C: Sistema de Golgi. M: mitocondrias. N: núcleo. C: citoplasma.

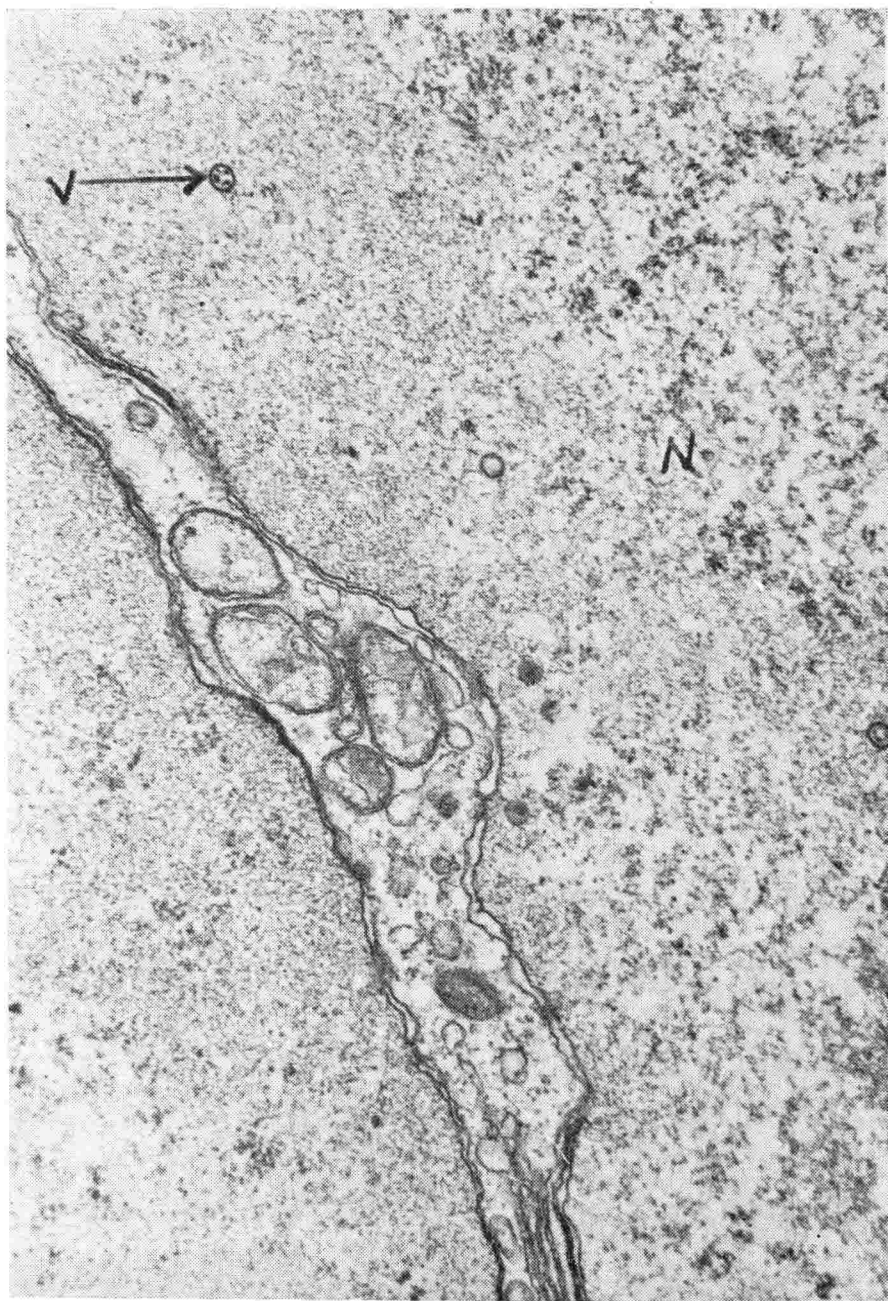


Foto 10

Corresponde al caso colombiano Nº 2, a 37° C. En el nucleolo se notan diversas partículas virales de forma cúbica. Algunas de ellas empiezan a formar nucleoides centrales (DNA). Otras presentan bordes todavía borrosos, x 10500. N: núcleo, V: virus.



Foto 11

Caso colombiano N° 2. 37° C. Se ve en el citoplasma un virus en proceso de maduración. Tanto su capsido como el núcleo están totalmente formados. Alrededor de él hay membranas de origen celular que fácilmente llegarán a constituir la envoltura externa del virus. Estas membranas pueden corresponder a la envoltura externa de la membrana nuclear rota. x 15000. N: núcleo, V: virus, LP: membrana tipoprotéica de origen celular. M: mitocondria en proceso degenerativo, R: ruptura (a la derecha).

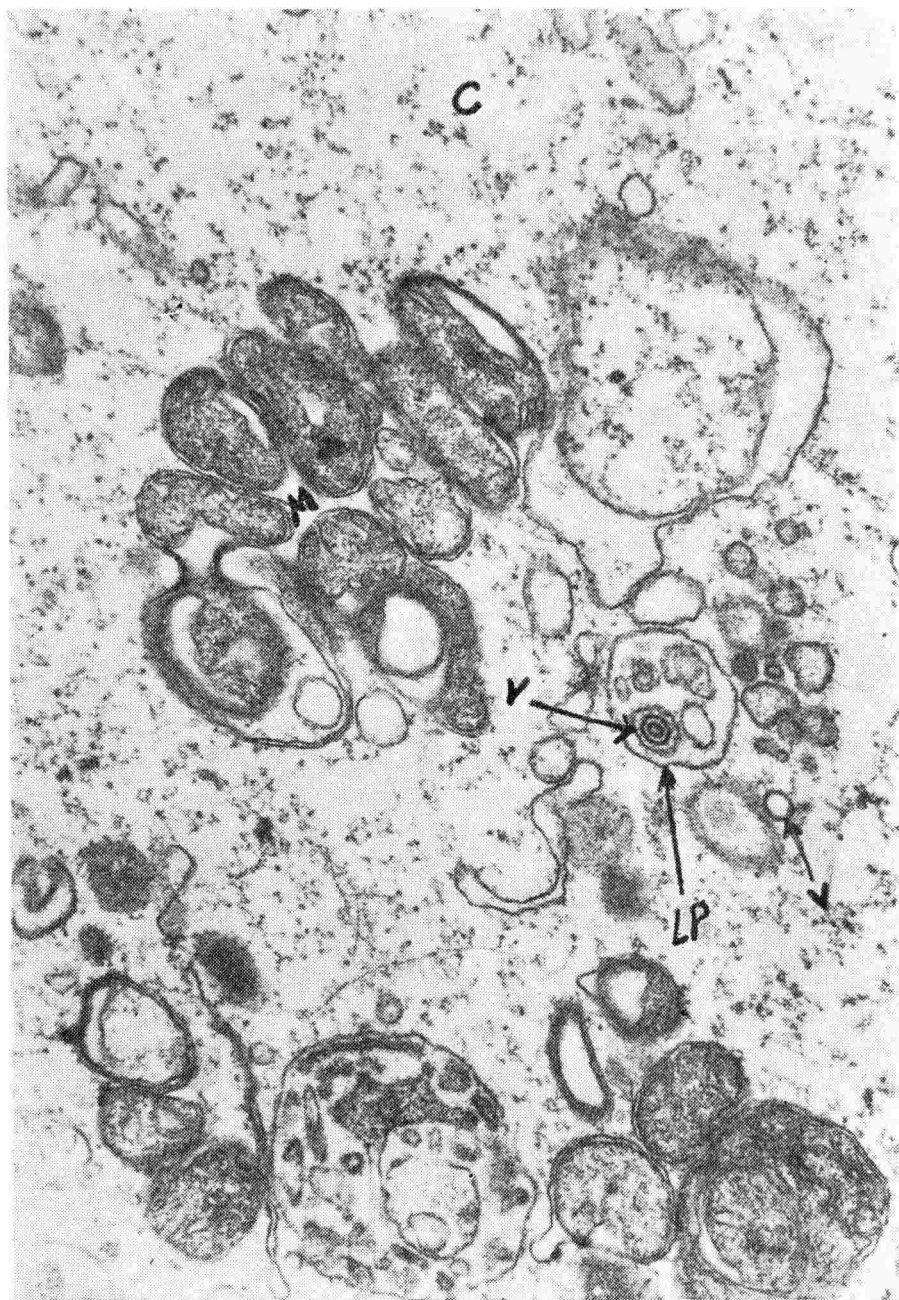


Foto 12

Caso colombiano N° 2. 37° C. Se nota un virus ya maduro, rodeado por membrana y en el interior de una nueva vesícula. Los virus son transportados en esta forma hasta los límites externos de la célula. Se ve también un virus inmaduro, sin nucleóide.
x 14000. C: citoplasma. V: virus. LP: envoltura lipoprotéica.

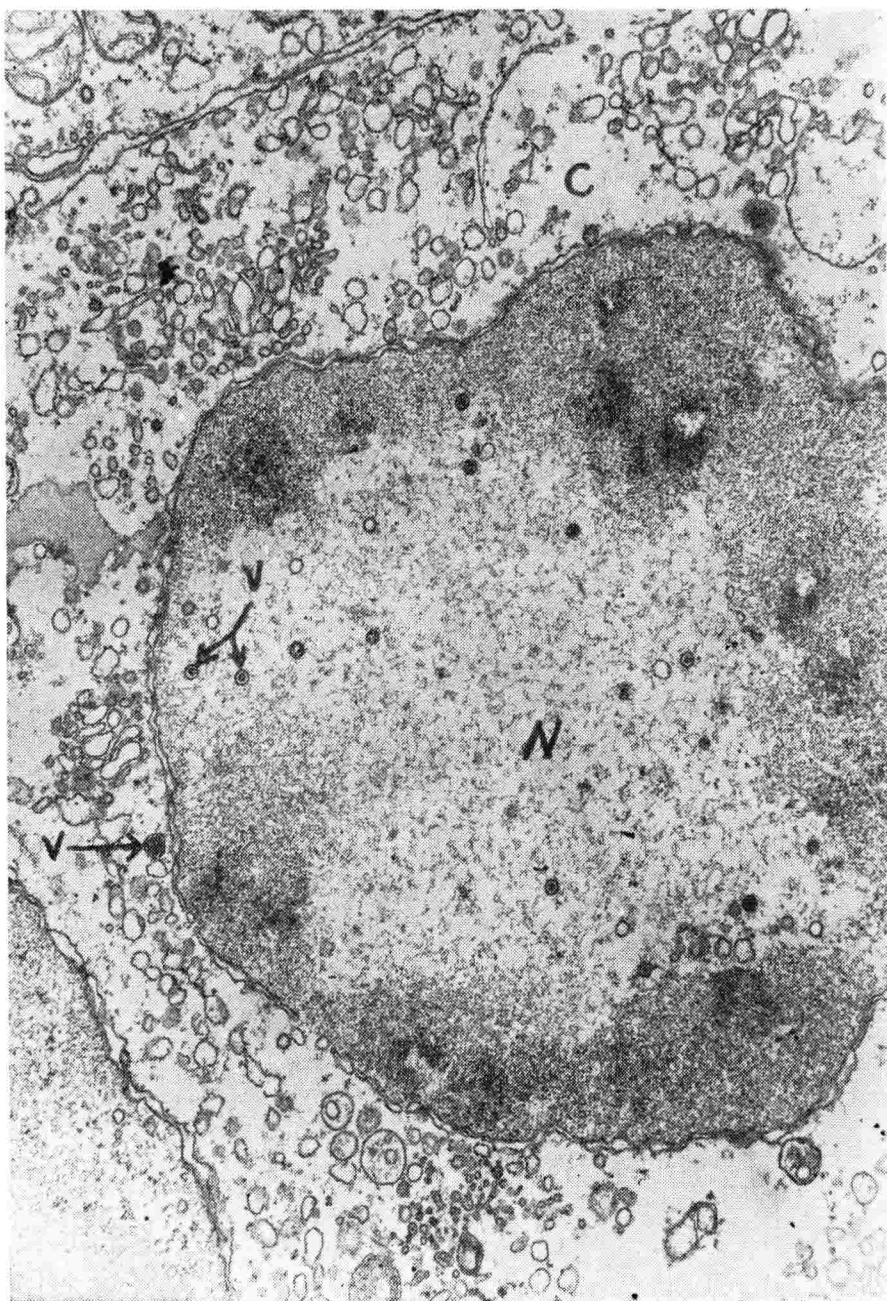


Foto 13

Caso colombiano N° 2. Cultivo a 33° C. Día 12. La célula se muestra anormalmente transparente lo cual indica el efecto citopático inducido por los virus. Estos son muy numerosos en el núcleo. La mayoría tienen nucleoproteínas ya formadas. La cromatina se observa todavía hacia los bordes del núcleo pero la parte central de este es más clara y parece corresponder al llamado viroplasma. El citoplasma presenta organelos degenerados y se ve un virus maduro. x 9000. N: núcleo, C: citoplasma, V: virus.

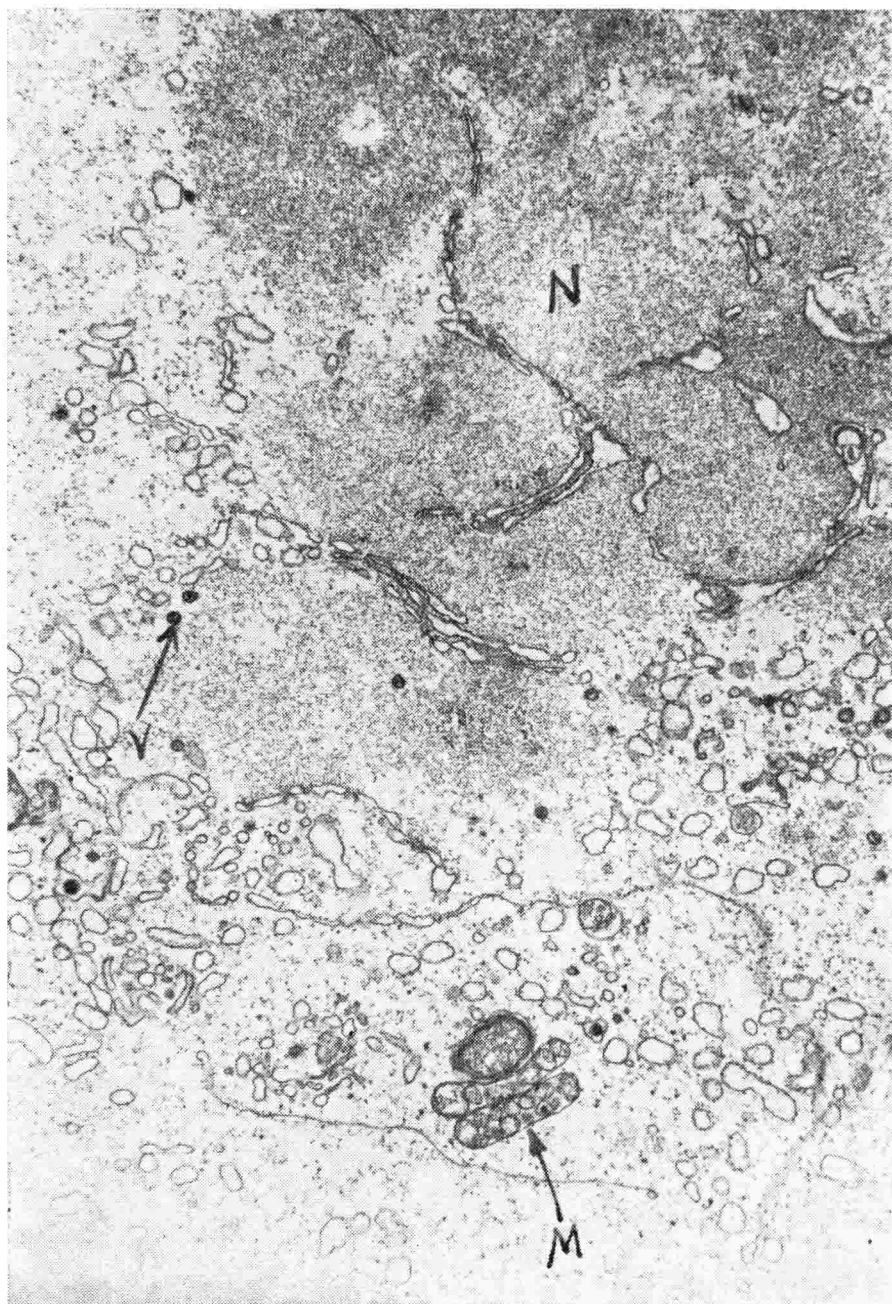


Foto 14

Corresponde a las mismas células de la fotografía 13. Nótese cómo ha desaparecido la membrana nuclear. Se ven abundantes virus y mitocondrias muy densas con destrucción de las vrostas, x 10000. V: virus, N: núcleo, M: mitocondrias.

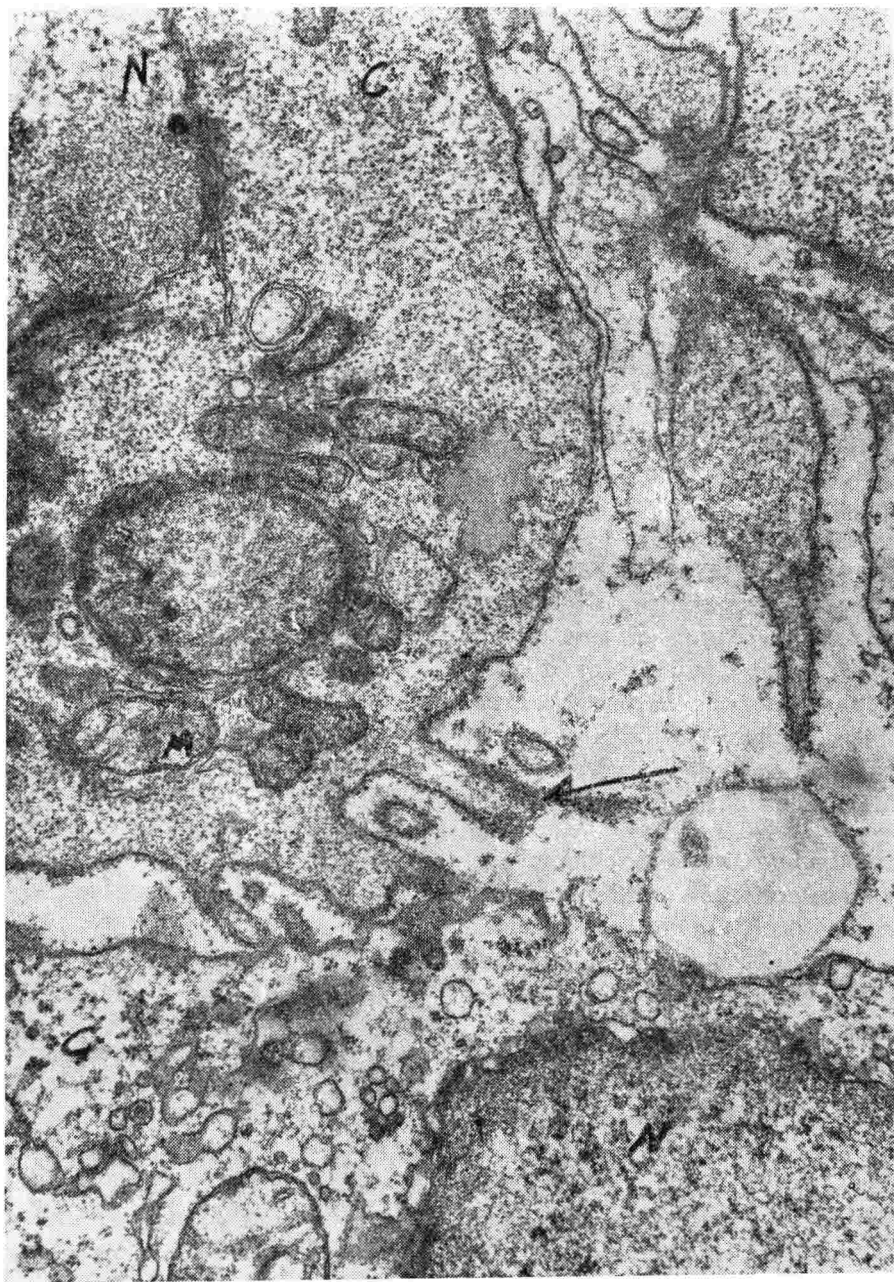


Foto 15

Corresponde a las mismas células de las fotografías 13 y 14. La flecha focaliza la presencia de digitaciones en la membrana citoplasmática, las cuales son consecuencia de la necrosis celular. Las mitocondrias se muestran muy hinchadas. x 6000. N: núcleo. C: citoplasma. M: mitocondrias.

DISCUSION

El aumento de la síntesis de virus conseguido por Hinuma y sus colaboradores⁹ en sus células HR1K, es de capital importancia ya que permite la obtención de mayores concentraciones de virus para experimentos de purificación. Es muy posible que a 33°C desaparezcan mecanismos inhibidores de la síntesis del DNA viral, los cuales todavía están presentes a 37°C que es la temperatura normal para todos los cultivos celulares.

En nuestros experimentos hemos confirmado los hallazgos de Hinuma tanto en las cepas celulares de origen africano como en las originadas de tejidos de pacientes colombianos. En ambas se obtiene un evidente aumento de la síntesis viral cuando la temperatura es de 33°C.

En lo referente a las células africanas, la selección de una línea celular libre de virus con la capacidad de sintetizar IgG, al cabo de más de 100 días de cultivo, plantea diversas hipótesis.

Se puede pensar que las células obtenidas al cabo de este tiempo han sufrido una transformación en su estructura genética. En la literatura se citan casos de mutantes virales sensibles a la temperatura.²⁵ No se puede sin embargo aceptar tal planteamiento para el presente caso ya que eso significa que una misma temperatura puede inducir tanto aumento como represión de la síntesis viral, fenómeno bastante ilógico.

Si se tiene en cuenta que normalmente solo del 0,5% al 10% de estas células tienen virus⁹ y que el 90% de las células restantes son biológicamente activas, se podría concluir que el cambio de temperatura volvió a aquel 90% más receptivo a la infección por los virus que son formados continuamente en el número menor de células. Con base en esto, se puede concluir que lo que se ha obtenido al cabo de 106 días de cultivo, es la adaptación a nuevas condiciones ambientales de algunas de las células que desde un principio carecían de virus. La presencia de IgG en estas últimas parece corroborar esta hipótesis ya que nuestros experimentos comprueban fenómenos de competencia entre la síntesis de virus y la síntesis de IgG en la misma célula. Este podría ser un mecanismo de gran importancia en el control de multiplicación de este virus y posiblemente de la enfermedad.

La temperatura más baja podría inhibir mecanismos represores de la síntesis IgG y en esta forma volver a las células más susceptibles a la infección viral.

Otra posibilidad es que cultivos provenientes del mismo tumor tengan células con características biológicas diferentes. En una publicación muy reciente (1971), Fialkow y sus colaboradores²⁶ han observado cepas celulares de diversos tipos en varios tejidos cultivados del tumor de Burkitt. Sin embargo en la clona celular HR1K desarrollada por Hinu-

ma* se pudo demostrar desde un principio un solo tipo celular.

El problema de la histogénesis del linfoma de Burkitt ha sido muy debatido. Desde 1961 hasta el presente, la célula tumoral ha sido considerada como linfocito por O'Connor² y Wrigth,²⁷ linfoblasto por Dorfmann²⁸ y célula linforeticular indiferenciada por Berard O'Connor y Torloni.²⁹

El examen ultraestructural de los tejidos tumorales provenientes de los pacientes colombianos revela que la célula tumoral es linforeticular indiferenciada. La presencia de eucromatina en el núcleo indica la existencia de RNA mensajero en el mismo, característica propia de células con altos índices de síntesis proteica.³⁰ La basofilia citoplasmática observada al microscopio de luz corresponde a los abundantes poliribosomas vistos en el citoplasma al microscopio electrónico.

Esto se relaciona con una síntesis proteica acelerada. El hecho de que los poliribosomas se encuentren libres y de que no exista retículo endoplasmático rugoso confirma el grado de indiferenciación celular.

Las células muestran sistema de Golgi, vesículas y polarización mitocondrial, característicos tanto del tumor como del tipo celular mencionado.²⁹ Todo esto prueba que la ultraestructura del tumor en nuestro

medio es igual a la de los casos de otras latitudes.

Un hallazgo importante es el de virus EB en biopsias y cultivos celulares de los casos colombianos. Con base en su aspecto morfológico (forma poligonal y 120 milimicras) se puede concluir que se trata del mismo virus descrito por Epstein y Barr^{3, 4} en el Africa y Nueva Guinea.

Las características de multiplicación, maduración e infección presentadas por este virus en nada difieren de los virus africanos. Esta podría ser una evidencia de tipo circunstancial para su correlación etiológica con el tumor.

Se debe también anotar que los dos casos en discusión provienen de áreas por encima de 1.800 metros de altitud, lo cual descartaría la posibilidad de un agente infeccioso transmitido por un vector. Sin embargo, la gran variedad de climas existentes entre nosotros y la facilidad con que se puede cambiar de uno a otro mantiene esta hipótesis latente.

Recientemente se ha estudiado la relación entre la distribución de la malaria endémica y la incidencia del linfoma de Burkitt. Según algunos autores,³² la infección de malaria haría a las células más susceptibles a la infección viral. Este podría ser un nuevo tema de estudio en nuestro medio.

RESUMEN

1. Se confirman los hallazgos de otros autores sobre los efectos de diversas temperaturas de cultivo en la síntesis del virus de Epstein y Barr.

2. Se obtuvo una línea celular libre de virus de Epstein-Barr y la cual sintetizaba inmunoglobulinas de tipo G, ausentes en la cepa celular africana que las originó.

3. Se cree que con los experimentos realizados se consiguió adaptar a nuevas condiciones ambientales, a células del linfoma de Burkitt.

4. Se demuestra que existen fenómenos de competencia entre la síntesis de inmunoglobulinas G y la infección por el virus mencionado.

5. Se comprueba de manera definitiva la presencia de enfermedad entre nosotros, estudiándose por primera vez en nuestro medio a través del microscopio electrónico.

6. Se establece por primera vez en casos colombianos cultivos celulares del linfoma de Burkitt.

7. Se demuestra por primera vez entre nosotros que tanto las biopsias como los cultivos celulares de linfoma de Burkitt de pacientes colombianos presentan virus morfológicamente idénticos al virus de EB.

8. Se comprueba que, en los cultivos celulares, dichos virus presentan características biológicas similares a los virus EB africanos.

SUMMARY

The ultrastructural pattern of biopsies of two cases of Colombian Burkitt's lymphoma is studied. Epstein-Barr viruses were found in tissue cultures from one of these two cases and their morphology and biological behaviour are compared with tissue cultures derived from an african case

(JIYOYE cell line). Several experiments performed with the JIYOYE cell line, and based in the effect of different temperatures on the synthesis of EB virus by the cultured cells, resulted in the obtention of a cell line free of virus and with high titers of IgG.

AGRADECIMIENTOS:

El autor agradece a los Doctores José Agustín Casas y Efraín Bonilla,

el haber suministrado los tejidos de uno de los casos colombianos.

REFERENCIAS

1. Burkitt, D. **Sarcoma Involving Jaws in African Children.** Brit. J. Surg. 46: 218 (1958).
2. O'Connor, G. T. **Malignant: Lymphoma in African Children. II. A Pathological Entity.** Cancer: 14: 270, 1961.
3. Epstein, M. A., Achong, B. G., and Barr, Y. M.: **Virus particles in cultured lymphoblast from Burkitt's lymphoma.** Lancet. 1: 702, 1964.
4. Epstein, M. A., and Achong, B. G.: **Virus in cultured lymphoblasts from a New Guinea Burkitt lymphoma.** Brit. Med. Journal. 2: 290, 1967.
5. Pulvertaff, R. J. V.: **Cytology of Burkitt's tumour (African lymphoma).** Lancet. 1: 238, 1964.
6. Henle, G., and Henle, W.: **Immunofluorescence in cells derived from Burkitt's lymphoma.** J. Bacteriol. 96: 1248, 1966.
7. Klein, G., Clifford, P., Klein, E., Smith, R. T., Minowada, J., Kourilsky, F. M. and Burchenal, J. H.: **Membrane immunofluorescence reactions of Burkitt's lymphoma cells from biopsy specimens and tissue cultures.** J. Nat. Cancer Inst. 39: 1027, 1967.
8. Diehl, V., Henle, G., Henle, W. and Hohn, G.: **Demonstration of a Herpes Group Virus in peripheral leucocytes from patients with Infectious Mononucleosis.** Virol. 2: 663, 1968.
9. Hinuma, Y., Konn, M., Yamaguchi, J., Wudarski, D. J., Blakeslee, J. R., and Grace, J. T.: **Immunofluorescence and Herpes type virus particles in the P 3 HR - 1 Burkitt Lymphoma cell line.** J. Virology. 1: 1045, 1967.
10. Hinuma, Y., Konn, M., Yamaguchi, J. and Grace, J. T.: **Replication of Herpes type virus in a Burkitt Lymphoma cell line.** J. Virology. 1 (6): 1203, 1967.
11. Beltrán, G.: **Childhood Lymphoma in Colombia South America.** Cancer 19: 1124, 1966.
12. Beltrán, G., Báez, A., Correa, P.: **Burkitt's Lymphoma in Colombia.** Am. J. MED. 40: 211, 1966.
13. Fagundes, L. A., de Oliveira, R., Amaral, R.: **Child lymphosarcoma in the state of Rio Grande do Sul, Brasil.** Cancer. 22: 1283, 1968.
14. Eagle, H.: **Aminoacid metabolism in Mammalian cell. cultures.** Science. 130: 432, 1959.
15. Merchant, D. J., Kahn, R. H., Murphy, W. H.: **Handbook of cell and Organ Culture.** Burgess publishing company. Pj. 28, 1965
16. Sabatini, D. D., Benseh, K. G., and Barnett, R. J.: **Preservation of ultrastructure and enzymatic Activity by aldehyde fixation.** J. Histochem. and Cytochem. 10: 652, 1962.
17. Freeman, A.: **Comunicación personal.** Roswell park Memorial Institute.
18. Palade, G. E.: **A study of fixation for electron microscopy.** J. Exp. Med. 95: 285, 1952.
19. Pease, D. C.: **Histological techniques for electron microscopy.** Academic Press. Pj. 84, 1964.
20. Mollenhauer, H. H.: **Plastic embedding mixtures for use in electron Microscopy.** Stain Technology. 39: 111, 1964.
21. Huxley, H. E., and Zubay, G.: **Preferential staining of nucleic acid containing structures for electron microscopy.** J. Biophysic and Biochem Cytol. 11: 273, 1961.
22. Reynolds, E. S.: **The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy.** J. Cell Biol. 17: 208, 1963.
23. Iwakata, S., Grace, J. T.: **Cultivation in vitro of myeloblasts from human leukemia.** N. Y. State. J. Med. V. 64: 2279, 1964.
24. Horosewicz, J.: **Comunicación personal** Roswell Park Memorial Institute.
25. Yin, F. H., and Lockart, R. Z.: **Maturation defects in temperature sensitive mutants of Sindbis virus.** J. Virology. 2: 728, 1968.
26. Fialkow, P. J., Klein, G., Giblett E., Gothoskar, B., and Clifford P.: **Foreign cell contamination in Burkitt tumours.** Lancet. 7705: 883, 1971.
27. Wright, D. H.: **Cytology and histochemistry of the Burkitt lymphoma.** Brit. J. Cancer, 17: 50, 1963
28. Dorfman, R. F.: **The fine structure of malignant lymphoma in a child from St. Louis, Missouri.** J. Nat. Cancer Inst. 38: 491, 1967.

29. Berard, C., O'Connor, G. T., Thomas, L. B., and Torloni, H.: **Histopathological definition of Burkitt's tumour.** Bulletin of the World Health Organization. 40: 601, 1969.
30. Fawcett, D. W.: **An Atlas of fine structure. The cell. Its organelles and inclusions.** E. B. Saunders Co. Pj. 8, 1966.
31. Mori, Y., Lennert, K.: **Electron microscopy Atlas of lymph node Cytology and Pathology.** Springer-Verlag. Pj. 33, 1969.
32. Burkitt, D. P.: **Etiology of Burkitt's lymphoma: An alternative hypothesis to a vectored virus.** J. Nat. Cancer Inst. 42: 19, 1969.

Angeitis Necrotizante Sistémica no Supurativa

Doctores: GABRIEL TORO G. *
ODILIO MENDEZ S. **
HERNAN ALVARADO C. ***
EGON LICHTENBERGER ****
JAIME CANTILLO G. *****

INTRODUCCION

De acuerdo con Payling-Wright fueron Rokitsansky¹ en 1852 y Kussmaul y Maier² en 1866 los primeros en analizar la patología de las arteritis. Klinger en 1931³ describe el primer caso de "Vasculitis Granulomatosa" y en 1936 y 1939 Wegener⁴ caracteriza la enfermedad como una entidad clínico-patológica. Godman y Churg en 1954⁵ fijan los criterios para su diagnóstico, que consisten en la presencia de lesiones necrotizantes del tracto respiratorio alto y de los pulmones, angeitis necrotizante de arterias y venas y glomerulitis que puede adoptar una forma granulomatosa. En 1966 Carrington y Liebow⁶ describen formas pulmonares localizadas de la enfermedad. En 1951 Churg y Strauss⁷ se refieren a un síndrome clínico caracterizado por asma, fiebre, eosinofilia y lesiones

tisulares consistentes en necrosis fibrinoide, exudado eosinofílico, reacción granulomatosa con células epiteloides y gigantes; cuadro histopatológico al que denominaron "Granulomatosis Alérgica".

En la actualidad⁸ se considera la angeitis sistémica no supurativa necrotizante como un solo grupo en el cual se incluyen múltiples formas de vasculitis entre ellas los dos tipos que presentamos.

Casuística:

Los dos casos de granulomatosis de Wegener y el caso de Granulomatosis Alérgica, motivo de esta presentación y que resumimos a continuación son los únicos observados desde 1953 hasta la fecha en los archivos de Patología del Hospital San Juan de Dios e Instituto Nacional de Cancerología (I. N. C.).

Caso Nº 1. H. C. 72666 I. Nal. de Cancerología. Hombre de 36 años, de profesión guardián. En agosto 12/64 consulta a la Caja Nacional de Previsión Social por epistaxis, frecuentes, no muy profusas, de dos meses de evolución. Al examen se aprecia rinorrea, obstrucción nasal, otorrea bilateral e hipoacusia.

* Profesor Asociado de Patología - Neuropat - Fac. Med. U. Nal. - Miembro del Grupo de Patología del INPES - Bogotá.

** Profesor Asistente de Patología - Fac. Med. U. Nal. - Bogotá.

*** Profesor Asistente de Patología - Fac. Med. U. Nal. - Bogotá.

**** Profesor Titular Director del Depto. de Patología - Fac. Med. U. Nal. - Bogotá.

***** Profesor Asistente de Patología - Fac. Med. U. Nal. - Bogotá.

Hay expectoración hemoptóica ocasional. La obstrucción nasal es rápidamente progresiva y aparecen tumefacciones submaxilares hasta de 2 cms. móviles e indoloras.

T. A. 110/80. Pulso: 100/m. - T. 38°C. Una biopsia nasal muestra inflamación crónica con marcada necrosis y cambios de angitis poco aparentes. Cuadro hemático y química sanguínea normal. Esputo negativo para bacilo de Koch. De la secreción ótica se aisló un estafilococo. Rx muestra sinusitis maxilar derecha crónica de tipo polipoide e imágenes basales bilaterales, compactibles con focos bronconeumónicos. Recibe antibióticos durante 15 días sin mejoría.

Sospechando una neoplasia rinofaríngea, se traslada el 27 de agosto de 1964 al I.N.C. donde se anota mal estado general, se corroboran los datos ya anotados y se comprueban signos de infección respiratoria. T. A. 130/80. Lab: Hgb. 11.4 grs%, hematocrito 40%, eritrosedimentación 90 mm, leucocitos 10.200, cayados 8, neutrófilos 81, linfocitos 10, monocitos 1. Química sanguínea: nitrógeno uréico 21.4 mg.%, úrea 46 mg.%, glicemia 120 mg.%, Mazini y cardiolipina: negativas.

Se observa empeoramiento progresivo, esporádicamente tos con esputo hemoptóico y aparecen úlceras en la lengua. Rx de tórax: adenomegalias hiliares bilaterales y nódulos múltiples, algunos bien definidos pero que no permiten decidir un diagnóstico entre lesión metastásica o proceso inflamatorio (Fig. 1). La 2ª Rx de senos paranasales se muestra en la Fig. 1 a.

Una segunda biopsia nasal muestra inflamación crónica granulomatosa y es negativa para tumor. Como no permite una clasificación más precisa se toma biopsia de las tumefacciones submaxilares y se observa glándula salivar y un proceso inflamatorio con una imagen histológica igual a la lesión nasal.

Se menciona la posibilidad de blastomycosis suramericana.

Al 8º día de hospitalización hay intenso dolor de garganta e imposibilidad para la deglución, el estado general es cada vez peor pese al tratamiento con sangre, suero y antibióticos. Hay notorio agravamiento de la sintomatología respiratoria, la temperatura llegó a 39.5 y el día 11º el paciente entra en Shock y fallece.

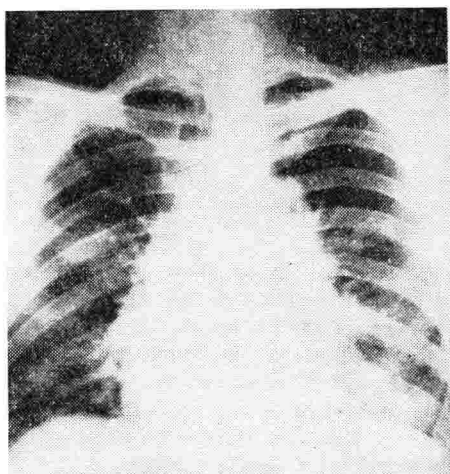


Figura 1



Figura 1-A

Estudio post-mortem (A068-64.Inc):

La nariz está deformada y en las fosas nasales se ven formaciones vegetantes friables y necróticas cubiertas por costras sero-hemáticas que las obstruyen casi completamente. No hay lesiones en la piel. La lengua presenta 4 úlceras, la mayor de 2 cms, excavadas y de bordes bien definidos (Fig. 2). La laringe muestra dos úlceras elevadas, blanquecinas, una supraglótica de 0.5 cms., otra infraglótica de 0.8 cms. La tráquea y todo el árbol bronquial presenta ulceración y destrucción del epitelio y necrosis en el tejido de unión de los cartílagos (Fig. 2^a). Los pulmones pesan 2.270 g. y ambos muestran en todos los lóbulos nódulos de 1 a 6 cms, con extensa necrosis. El corazón pesa 310 g. presenta dilatación de cavidades derechas y en el miocardio hay puntos dispersos hasta de 3 mm. de color gris amarillento. El bazo pesa 400 g. y tiene en la superficie de corte, múltiples áreas nodulares idénticas a las del pulmón (Fig. 3). Los riñones pesan 390 g. y ambos presentan un punteado amarillento difuso en la corteza. Los ganglios paratraqueales e interbronquiales están medianamente aumentados de tamaño y tienen pequeños puntos blanco-amarillentos que alternan con antracosis.

Microscópicamente el corazón muestra una severa arteritis necrotizante granulomatosa con abundantes células gigantes. En algunos vasos la necrosis es de todo el espesor y de toda la circunferencia y en varios hay trombos de fibrina. En otros la lesión es más antigua y se ve esclerosis de la pared con proliferación de grado variable en la íntima y estenosis de la luz. En los vasos en donde la lesión es más aguda hay infiltrado linf, plasm e histiocitario que es preferentemente adventicial aunque toma todas las capas. Están comprometidas incluso las gruesas arterias coronarias y grandes venas del pericardio. Hay notorio aumento de tejido conjuntivo en algunos vasos y no raramente la destrucción de la elástica es total. Existe flebitis de menor grado en el interior del miocardio. Consecuentemente a la an-

geitis hay zonas múltiples, algunas muy extensas con necrosis de la miofibra y con infiltración moderada por linf y plasmocitos (Figs. 4 y 4-a.). Existe severa rinitis consecuente a arteritis granulomatosa y flebitis de menor severidad que la vista en corazón y en tráquea y bronquios una angeitis muy severa y del mismo tipo, con destrucción completa del epitelio y necrosis no solo del tejido de unión sino también en menor grado del cartilago. En el pulmón además de angeitis hay bronconeumonía, abscesos y bacterias. Existe lesión en los vasa-vasorum de la aorta ascendente y en algunos vasa-nervorum. En riñón hay angeitis pero su lesión más severa es una glomerulitis necrotizante que a veces incluye periglomerulitis y tiene células gigantes; las lesiones que aparecen más tempranas tienen predominio o son selectivamente del hilio glomerular. Figs. 5 y 5-a). En el ganglio linfático la angeitis es mínima y existen pequeños focos de necrosis e hiperplasia retículo-endotelial.

Caso Nº 2. H. C. 536845 - Centro Hospital San Juan de Dios. Mujer de 58 años, ingresa el 14 de mayo/69 por cefalea, tos con expectoración hemoptóica y edema generalizado. Enterorragia 15 días antes del ingreso. La enfermedad se inició 5 meses antes por adinamia, cefalea frontal y tos productiva, luego aparecieron melenas, edema de MMII., dolor costal izquierdo, ortopnea y tos con esputo hemoptóico. Refiere "inflamación de la nariz" desde hace 30 años, tos ocasional con esputo mucopurulento. Lumbalgias frecuentes. TA: 150/80. F. C. 98/m. T. 37°C, FR 24/m.

E. F.: Paciente pálida, disnéica, senos paranasales dolorosos, tabique nasal desviado a la derecha, y mucosas nasales atroficas con costras malolientes. Adenopatías cervicales móviles no dolorosas. In-gurgitación yugular a 45°. Pulso carotídeo visible en el lado derecho. Tiraje intercostal inferior. Matidez en bases pulmonares. Soplo holosistólico grado II en foco mitral edema palpebral y de miembros inferiores grado III.



Figura 2



Figura 2-A

Recibe tratamiento con digitálicos, diuréticos y dieta hiposódica. Un cuadro hemático a su ingreso mostró: Hb.6.8, Hto. 20, leucocitos 8.500, eosinófilos 10, cayados 2, segmentados 74, linfocitos 14, sedimentación globular 120/mm x hora.

El 3 de abril/69 se toma biopsia nasal que es informada como rinitis en fase subaguda (P. Q: 1324-69). La paciente continúa con expectoración muco-purulenta con pintas de sangre.

Una parcial de orina muestra densidad 1004, pH:6, Albúmina +, C. granuloso 6 x campo. Células 2-4 x campo, gérmenes ++++. El recuento de colonias muestra 50 millones de *E. coli*.

El 14 de Julio/69 se practica biopsia renal derecha que es informada como pielo-

nefritis crónica recidivante (P. Q: 1639-69), se llama la atención en esta biopsia sobre un proceso de periglomerulitis necrotizante y se sugiere el diagnóstico de periarteritis nodosa.

El 22 de julio/69 hay disfonía y disfagia para alimentos sólidos.

La química sanguínea muestra N U: 91 mg.%, Creatinina 3 mg.% Amilasa 110 unidades, transaminasas 12. Potasio 4.2 Meq./l

La depuración de creatinina 15.5. Electroforesis de proteínas: albúminas 50.95%, Alfa 1: 5.73%, Alfa 2: 7%, Beta 10.82% Gamma: 25.47%, Rx: imágenes bronconeumónicas basales, posibles bronquiectasias, sinusitis. Urografía: pobre eliminación del medio, posible cálculo uretral. E C G: Crecimiento de cavidades izquierdas. Cambios no específicos del segmento S. T.

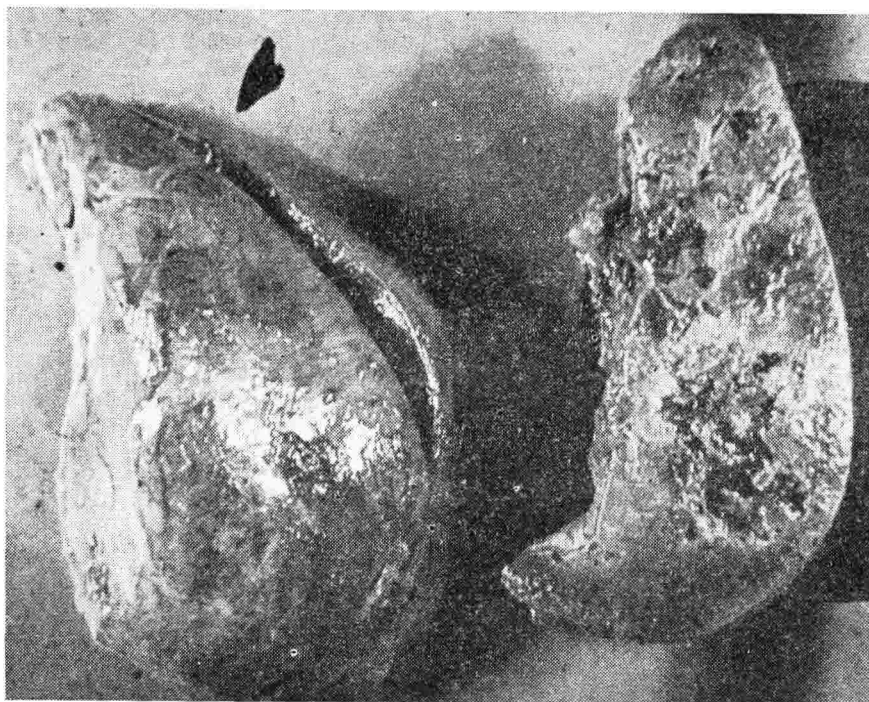


Figura 3

Se practica biopsia renal izquierda (P. Q: 1811-69) que es informada como Granulomatosis de Wegener. La paciente presenta hematuria después de la punción y hasta el día de su muerte. Se aplicaron transfusiones y líquidos parenterales. El 11 de agosto/69, se dan corticoides; muere dos días después, el día 90º de hospitalización. **Estudio post-mortem - A-271/69 (C. H. S.**

J. de D.):

Es una mujer mestiza con destrucción del ala de la nariz y del tabique nasal que está desviado hacia la derecha. En la mucosa bucal hacia el carrillo derecho hay una úlcera superficial de 2 cm. Se encuentra ascitis de 100 cc., hidrotórax de 400 cc. a cada lado y edema blando de miembros inferiores. El corazón pesa 340 g. y el miocardio tiene zonas puntiformes amarillentas. En la tráquea y bronquios se observan puntos rojizos dispersos en la mucosa, hay colapso pulmonar con mínima antracosis,

sin nódulos ni lesiones de otro tipo. Existe una pequeña úlcera pilórica aguda y pequeñas ulceraciones superficiales de la mucosa del intestino delgado. El bazo pesa 60 gs. y muestra puntos blanquecinos de 1 a 2 mm. Los riñones presentan superficie finamente granular y un punteado difuso amarillento en la corteza. En el izquierdo la biopsia provocó un hematoma perirrenal de unos 100 gr. El examen macroscópico de los demás órganos es negativo.

Microscópicamente hay rinitis crónica con angieitis cicatricial y raramente degeneración fibrinoide en arterias medianas, pequeñas y aún venas. En tráquea y gruesos bronquios existe una angieitis severísima con extenso reemplazo de la pared por necrosis fibrinoide y con infiltrado esencialmente de linfocitos sin eosinófilos. Se nota diferencia de evolución de un vaso a otro y en sitios la necrosis fibrinoide es

mínima o ya no existe y se ve fibrosis sobre todo en la íntima con reducción de la luz (Figs. 6 y 6-a). En el pulmón algunas arterias pequeñas tienen lesión pero no muy aguda. A ningún nivel del árbol respiratorio la angeitis tiene células gigantes. La mucosa respiratoria presenta infiltrado linfocitario y a trechos está destruida. En el corazón existe un grado muy severo de angeitis aguda con notoria necrosis. En el riñón hay angeitis de arterias medianas y pequeñas, priman las lesiones agudas y lo más prominente es la glomerulitis necrotizante en general difusa y total, pero en algunas unidades hay lesión segmentaria y periglomerulitis (Fig. 7). Se demuestra severa angeitis en estómago, útero, ovario, vejiga urinaria, músculo estriado sobre todo el diafragma, lengua, nervio periférico y bazo y es de menor grado en esófago, tiroides, mucosa oral, y ganglio simpático. En ganglio linfático hay eritrocitosis.

Caso Nº 3. H. C. 385076 - Centro Hospitalario San Juan de Dios: Hombre de 40 años de edad, agricultor, que consulta el 30 de noviembre/64 por dolor en un diente, "hinchazón" de la encía, nódulos cutáneos, diseminados, ortopnea, tos, astenia y artralgias de 5 meses de evolución. Los nódulos de la piel aparecieron hace 3 meses, son dolorosos, algunos con necrosis y mientras unos disminuyen de tamaño aparecen nuevos nódulos. Los síntomas respiratorios han empeorado desde hace 20 días.

E. F: TA 110/60, P. 124/m, Resp. 40, T. 38.8°C. Adenopatías cervicales inguinales y axilares confluentes dolorosas y muy adheridas a la piel. Existe hipoventilación en bases pulmonares con matidez en la base izquierda y hepato-esplenomegalia. La piel es acartonada, seca con lesiones eritemato-escamosas, escamo-costrosas y aun pápulo-postulosas en cuello y dorso de manos.

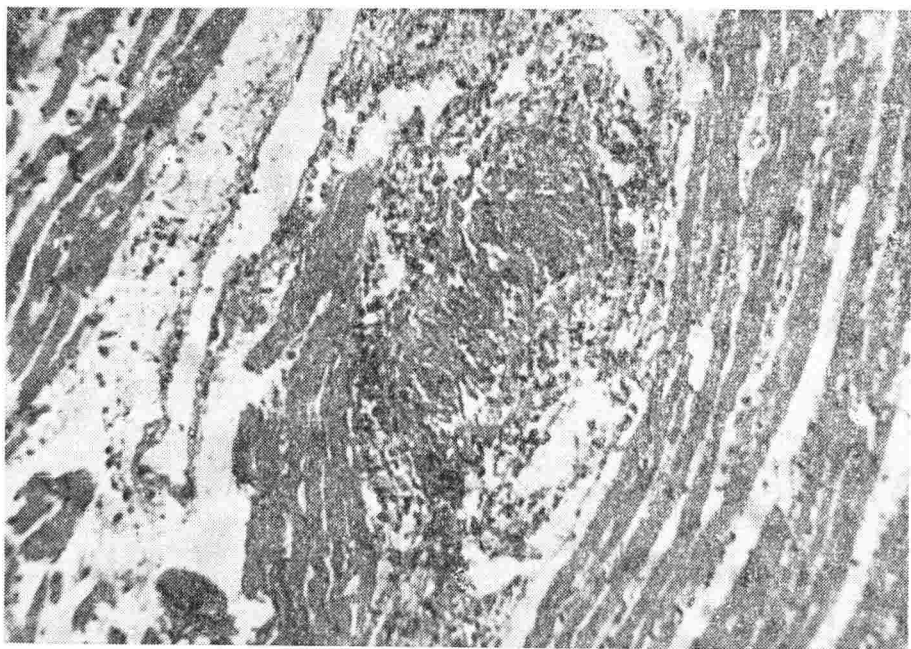


Figura 4

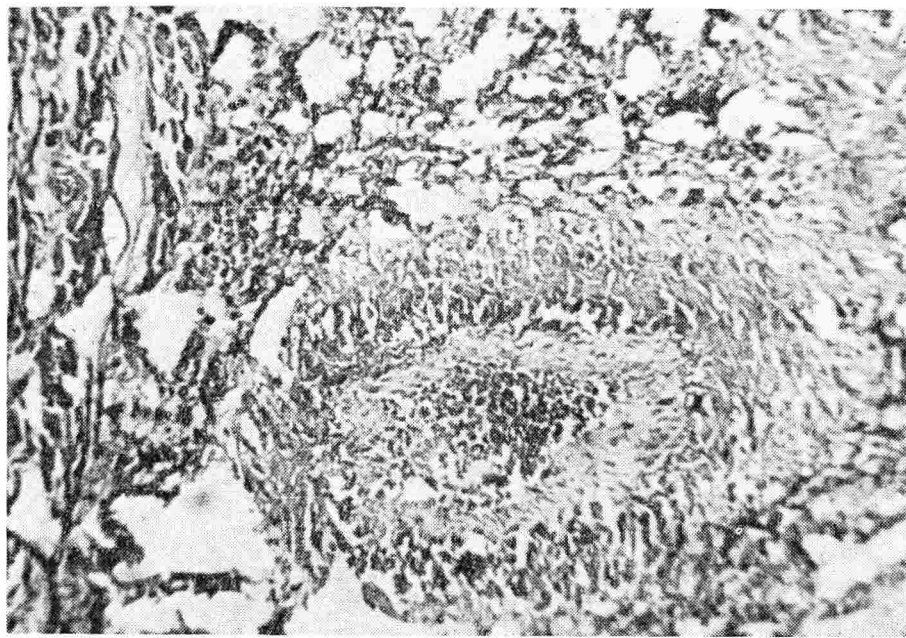


Figura 4-A

El C. H. mostró anemia ferropénica moderada, leucocitosis de 19.000, eosinofilia de 19% y eritrosedimentación de 120 mm/h. Química sanguínea normal. P. de orina: hematíes 3, leucoc. 6, gérmenes +, Coproanálisis: huevos de tricocéfalos++++. Tuberculina +, Rx indican derrame pleural. Una biopsia de ganglio cervical se informa linfadenitis aguda inespecífica severa con formación de microabscesos y con algunos eosinófilos.

El empeoramiento fue siempre progresivo, el día antes de la muerte la leucocitosis es de 26.000. Se pensó en linfoma, micosis profunda y T B C y se dieron tuberculostáticos. El paciente fallece el 8 de enero/65 el día 40º de hospitalización.

Estudio Post-mortem: A-007/65 - (C. H. S. J. de Dios). Hombre de 167 cm. de talla

y 45 kilos, con lesiones eritemato-esca-mosas, algunas con ulceración superficial sobre todo en la región posterior de tórax y abdomen. Hay hidrotórax izquierdo de 800 cc., ascitis de 100 cc. Todos los grupos de ganglios linfáticos superficiales y profundos muestran aumento de tamaño especialmente los cervicales que se fusionan y forman masas hasta de 2.8 cm., firmes de superficie blanquecina opaca. El corazón, de peso normal, muestra focos pequeños dispersos blanquecinos de hasta 0.2 cm. Los pulmones pesan 1.020 g. y en el lóbulo inferior y medio izquierdos hay bronconeumonía. El bazo pesa 800 g. muestra adherencias fibrosas en la cápsula y al corte un absceso de 1.5 cm. en el polo superior. Su superficie de corte es marrón, muy firme y tiene múltiples nódulos amarillentos de hasta 0.2 iguales a los que muestra el hígado.

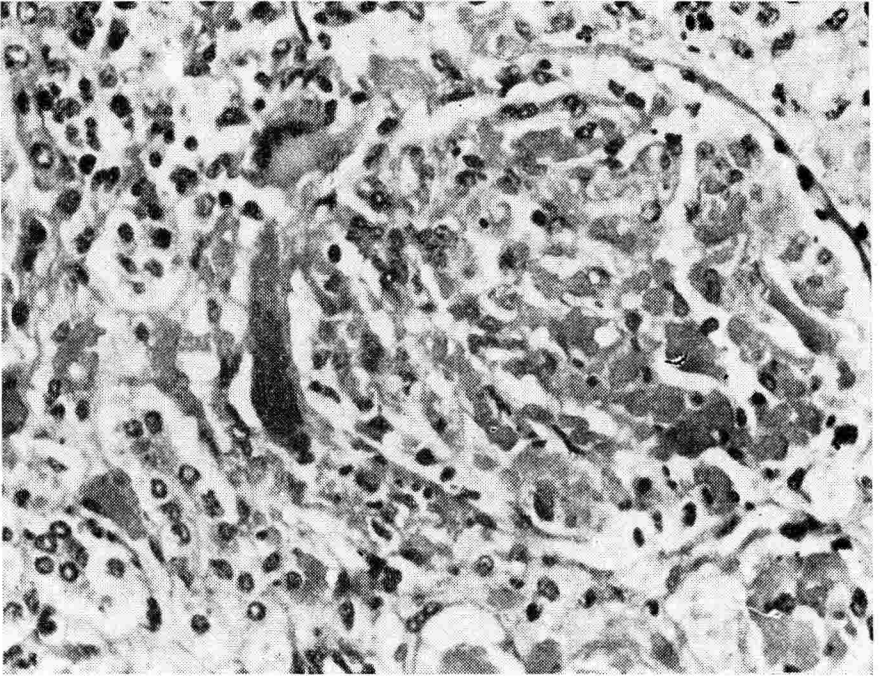


Figura 5

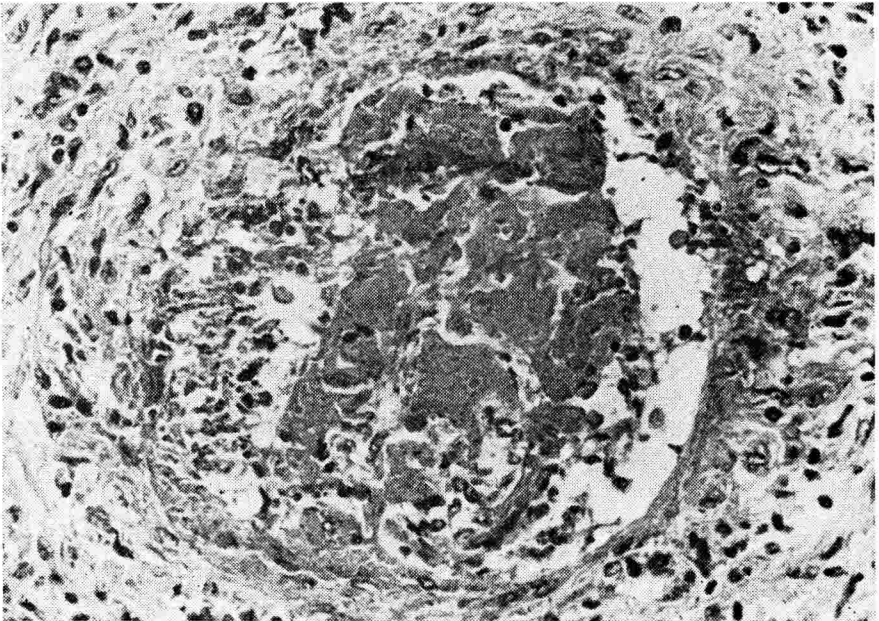


Figura 5-A

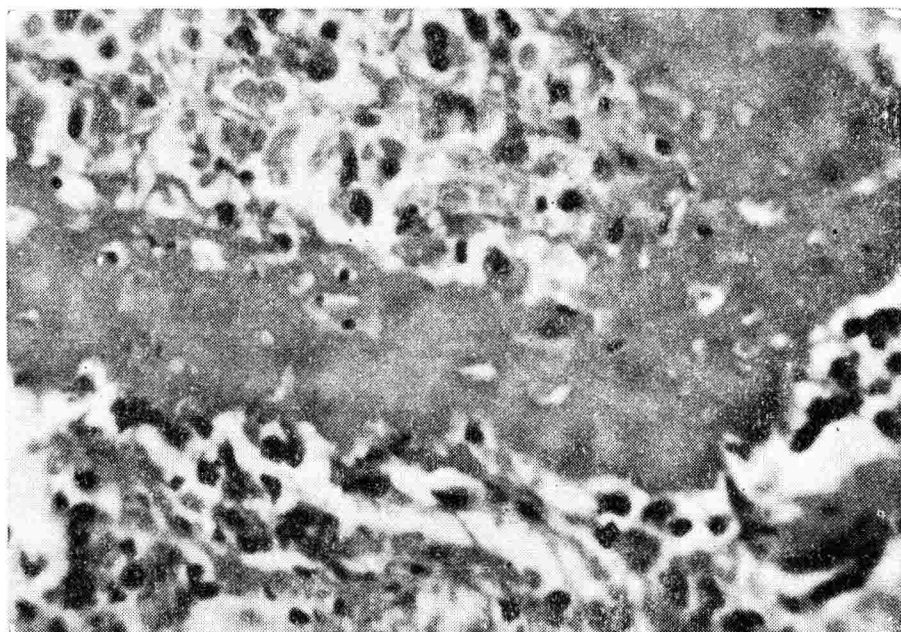


Figura 6

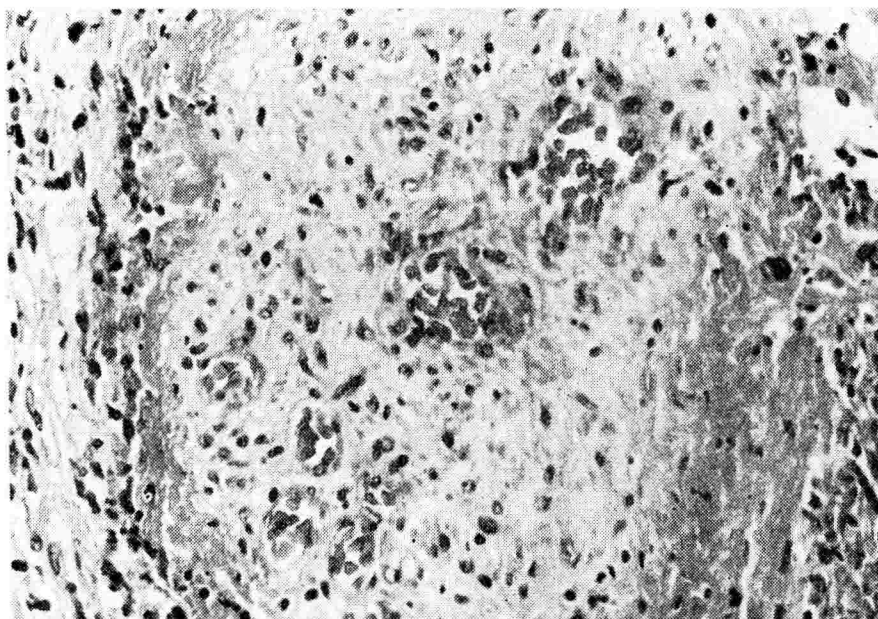


Figura 6-A

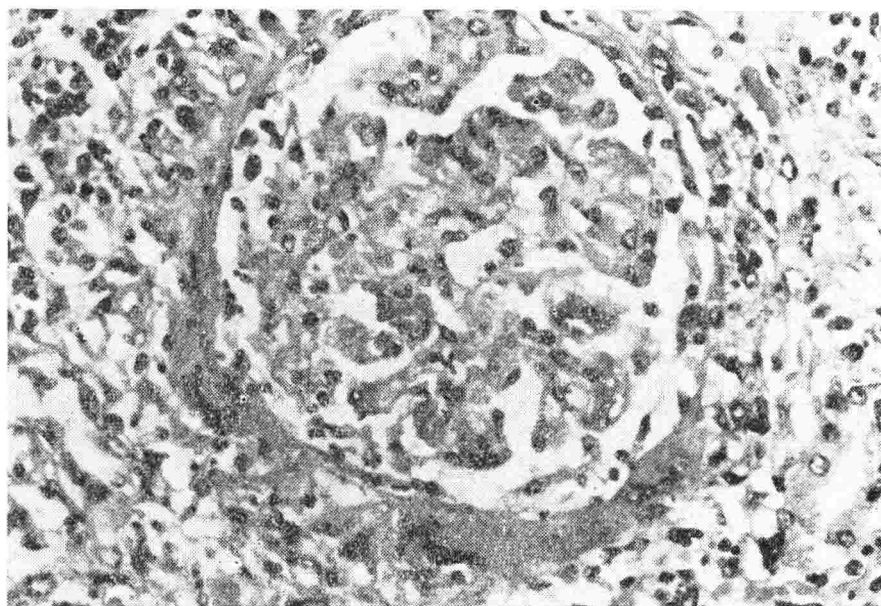


Figura 7

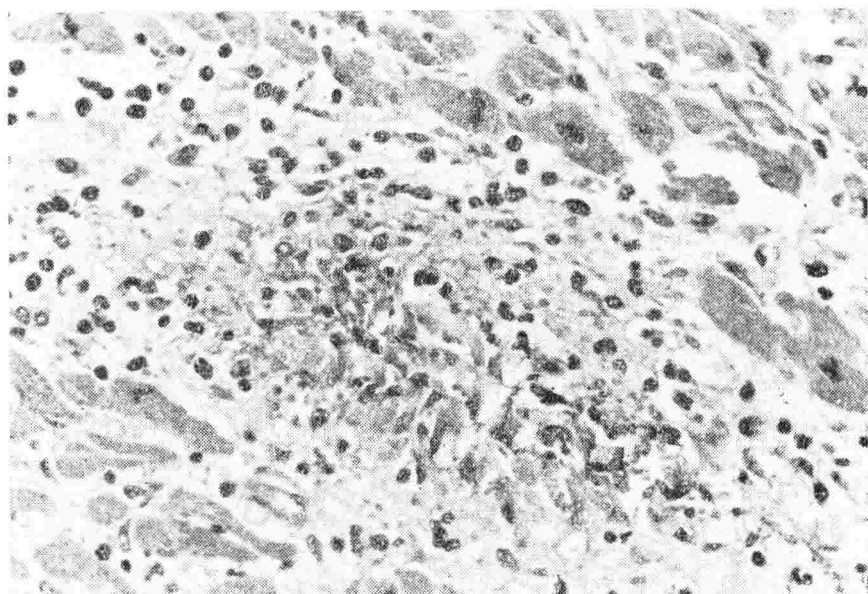


Figura 8

Microscópicamente el corazón presenta una angeitis que es preferentemente flebitis de tipo granulomatoso sin células gigantes con degeneración fibrinoide e infiltrado de linfocitos, plasmocitos, escasos histiocitos y abundantes eosinófilos. Este infiltrado es muy denso en endocardio y menos en pericardio, donde además se nota fibrosis. Hay múltiples focos de necrosis de la miofibra, fibrosis consecuente y en muchos de ellos escasos siderófagos (Fig. 8).

En los ganglios linfáticos la angeitis granulomatosa tiene características similares, e incluye algunas células gigantes y muestra diferente evolución de la lesión vascular, que en la fase tardía es muy obliterate y suele dar imágenes nodulares (Figs. 9, 9-a y 9-b). Existe marcada fibrosis del ganglio con pérdida de la arquitectura, el infiltrado inflamatorio no está sólo en relación con vasos y hay microfocos de necrosis. Muy similar es la histología del bazo.

En el hígado hay marcada infiltración especialmente en los espacios porta por linfocitos, plasmocitos, eosinófilos y escasos polinucleares y se ve destrucción de algunos hepatocitos de la banda periportal. La piel presenta marcada capilaritis con arteriolitis y venulitis especialmente en el tercio superior, pequeños puentes de epidermis están destruidos y se ve microampolla infrabasal. El riñón muestra moderada infiltración intersticial por eosinófilos y en el pulmón la angeitis es mínima.

DISCUSION

La Granulomatosis de Wegener no es un síndrome frecuente; Walton en 1958⁹ en una revisión muy completa de la literatura comunica solo 56 casos, incluidas sus 10 observaciones personales. En 1963 Reed¹⁰ encuentra un total de 118 casos.

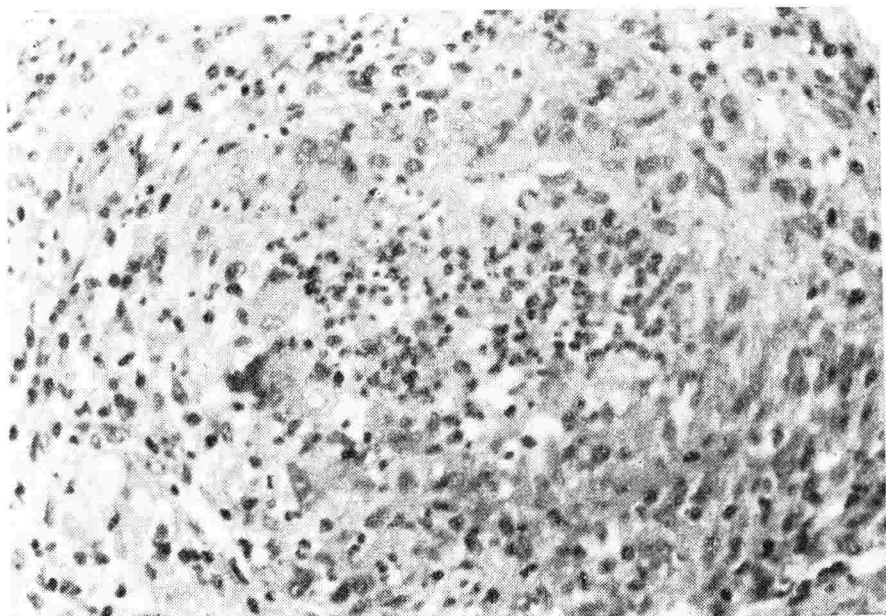


Figura 9

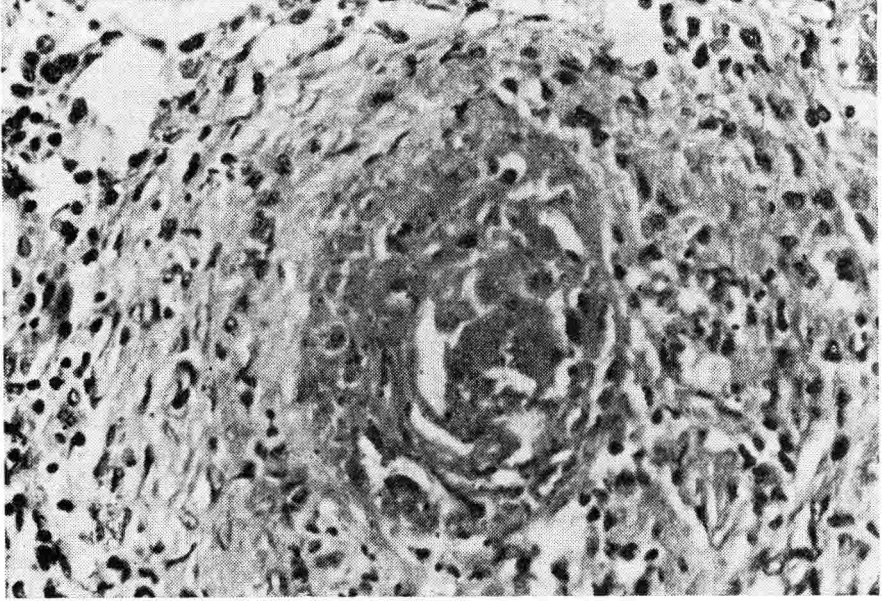


Figura 9-A

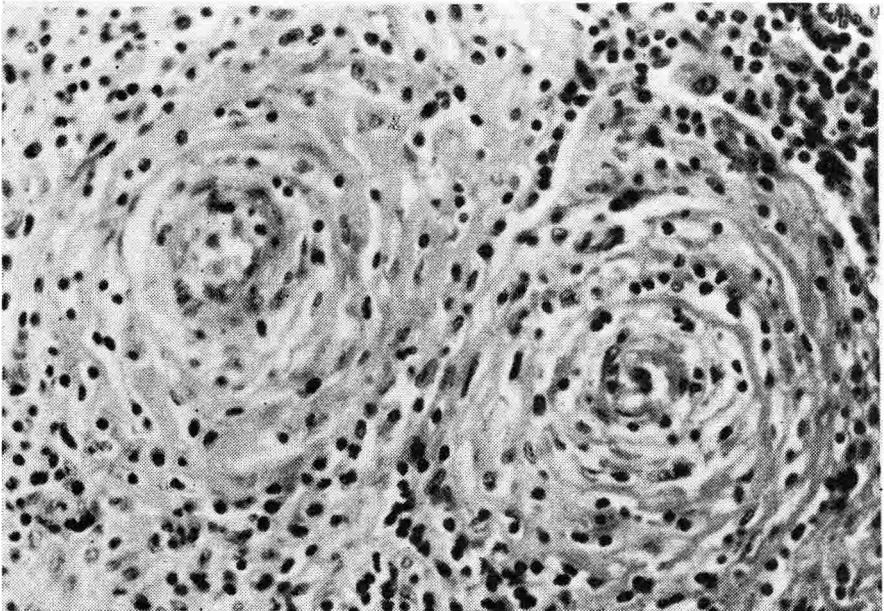


Figura 9-B

Levine y Madden¹¹ mencionan que en la revisión de 29 casos hecha por Fahey y colaboradores no hay diferencia significativa de frecuencia ligada al sexo y que las décadas cuarta y quinta son las más afectadas.

Thuy, Maurice Niles¹² plantean una vez más, que la historia natural de la Granulomatosis de Wegener se caracteriza por la presencia de lesiones granulomatosas necrotizantes del tracto respiratorio alto de los pulmones, angeitis necrotizante, glomerulitis focal y frecuente terminación en uremia. Los mismos autores indican que solo pocos pacientes logran sobrevivir dos o más años y así en los casos de Walton el promedio de evolución fue de cinco meses, falleciendo el 80% en el curso del primer año de la enfermedad.⁹

La causa más frecuente de muerte es uremia y según Godman y Churg el 86% de los pacientes fallecen por esta causa; y prácticamente el resto por insuficiencia respiratoria consecutiva a neumonía.

Como se ve desde el punto de vista clínico nuestros casos 1 y 2 no presentan ninguna diferencia con lo que en Granulomatosis de Wegener se puede considerar clásico.

Actualmente se aceptan formas no típicas de Wegener como por ejemplo las limitadas al pulmón, descritas por Carrington y Liebow en una serie de 16 casos,⁶ la asociación de lesiones vasculares pulmonares con una neumonitis por colesterol descrita por French y Siving¹³ la ausen-

cia de compromiso renal observada por Cassan, Coles y Harrison¹⁴ y el compromiso de glándula mamaria descrito por Elsner¹⁵ en una mujer de 45 años. También consideramos como excepción el segundo paciente de Hoch¹⁶ en el cual un diagnóstico diferencial con Carcinoma Letal de la Línea media constituye seria dificultad, y las manifestaciones de sistema nervioso periférico tan prominentes como las de nuestro caso 2 en un paciente de Drachman,¹⁷ que además presentaba angeitis en vasos cerebrales; cambio este último que ya había sido descrito en dos casos de Tuhy y col.¹⁸ en 1958.

El compromiso de fosas nasales, laringe y tráquea es usualmente tan severo que las lesiones pueden causar obstrucción nasal, desviación y hasta perforación del tabique como sucedió en 2 de los 3 casos referidos por Wegener⁴ y nariz en silla de montar vista por el mismo autor en su primer paciente.

Las lesiones de la tráquea pueden ser tan marcadas que macroscópicamente resulta aparente la necrosis de la mucosa y del tejido de unión de los cartílagos, tal como se vio en el primer caso de Klinger⁸ y en el paciente referido por Federman y Castleman en un CPC del Mass. General Hospital¹⁹ o las que se observan en nuestro primer caso (Fig. 2-a).

De vez en cuando es mínima la lesión macroscópica del tracto respiratorio como lo anotamos en nuestro segundo paciente.

Una lesión multinodular necrotizante como la que presentó nuestro primer caso, es el hallazgo macroscópico más frecuente en los pulmones y ofrece un diagnóstico diferencial radiológico difícil o imposible con un tumor^{22, 23}.

En el bazo no es raro ver una imagen multinodular de la superficie de corte semejante a la del pulmón y de ello son ejemplos el paciente de Federman y Castleman y nuestro primer caso (Fig. 3).

Los cambios renales macroscópicamente suelen semejar una glomerulonefritis. Aunque se han informado casos de severo compromiso cardíaco como el de Levine y Madden,¹¹ lesiones multifocales tan extensas como las que presenta nuestro primer caso, no son frecuentes.

Microscópicamente la base de todos los cambios histológicos es una severa arteritis necrotizante a veces con células gigantes que prefiere arterias medianas y pequeñas. En ocasiones la necrosis compromete todo el espesor y toda la circunferencia del vaso y puede haber trombos de fibrina. En las lesiones recientes hay infiltrados de linfocitos, plasmocitos e histiocitos, sin eosinófilos. Se observan en el mismo paciente diferentes fases de evolución hasta cambios cicatriciales de la pared, proliferación de la íntima y disminución o cierre de la luz, cambios que se observan mejor con tinción de Mallory. Con coloración para fibras elásticas se reconoce fragmentación

y disminución, hasta ausencia de estas fibras.

La flebitis aunque es de menor grado, está incluida ya en el esquema de Godman y Churg⁵ y se encuentra sin dificultad.

De mucho interés es el tipo de lesión renal, que permite frecuentemente un diagnóstico en biopsia como anotamos en el segundo caso. Este cambio, que Wegener⁴ no encontró previamente descrito y que creemos marca el comienzo de la lesión, es una glomerulitis necrotizante segmentaria con periglomerulitis que ya desde el comienzo es granulomatosa (Figs. 5 y 7) y se asocia frecuentemente con trombos de fibrina.

El diagnóstico diferencial, que se ha planteado esencialmente en base a la histopatología debe hacerse con la Periarteritis Nodosa^{3, 5, 12, 24}, Granuloma Letal de la Línea Media,²¹ Granuloma Alérgico, Sarcoidosis^{5, 12, 19, 20}, y otras angitis necrotizantes.²¹ El solo calibre de los vasos afectados separa esta entidad de angitis de las arterias mayores^{22, 23}. Solo algunas lesiones consideradas separadamente harían incluir en el diagnóstico diferencial la Púrpura trombótica Trombocitopénica.²⁴

En cuanto a la etiopatogenia Klinger³ considera un punto básico la sensibilización previa a determinados antígenos. Fahey, Leonard, Churg y Godman,²⁰ favorecen un mecanismo de hipersensibilidad e indican que ningún agente específico ha sido aislado, McCombs²⁵ resalta la impor-

tancia de este mecanismo y prefiere el término Vasculitis "Alérgica" Sistémica en su serie de 72 casos, en la cual la Granulomatosis de Wegener alterna con otras diez diferentes formas de angeitis. Budzilovich y Wilens²⁵ coinciden con Godman y Churg en que el tracto respiratorio parece representar el sitio de lesión primaria del agente noxógeno, que podría ser microbiano y que despierta la reacción granulomatosa localmente y mantiene interacción de los tejidos del huésped con el agente conduciendo a la hipersensibilidad tisular generalizada.

Paronetto⁶ en 1969 en un enfoque inmunopatológico de las angeitis necrotizantes no supurativas demuestra fibrinógeno con ausencia de gamma-globulina y complemento en la pared arterial.

Es grande la dificultad que todavía ofrece el tratamiento de la Granulomatosis de Wegener. En unos pocos casos Walton⁹ obtuvo mejoría con radioterapia y Capizzi y Bertino²⁶ obtienen resultados alentadores con Metotrexate.

Granulomatosis Alérgica:

Nuestro tercer caso, un hombre de 40 años con tos seca, ortopnea, fiebre, artralgias generalizadas y lesiones cutáneas eritematoescamosas, exudativas dolorosas, signología de lesión pulmonar, adenomegalias superficiales, hepatoesplenomegalia dolorosa, leucocitosis con eosinofilia de 19% con los hallazgos histopatológicas que mostramos en las Figs.

8, 9, 9-a y 9-b, coincide bien con la **Granulomatosis Alérgica** descrita por Churg y Strauss.⁷ El hallazgo microscópico básico es una angeitis granulomatosa necrotizante con marcada eosinofilia que afecta severamente ganglios linfáticos, bazo, corazón, piel, riñón, pulmones e hígado.

Churg y Strauss⁷ describen en la Granulomatosis Alérgica un cuadro clínico de asma bronquial, fiebre, eosinofilia, leucocitosis y compromiso vascular en varios órganos. En una serie de 13 casos 9 son mujeres.

El término Granulomatosis Patérgica introducido por Stenberg, Reynolds y Zeilenga en 1957²⁷ viene de la palabra patergia que Roesser define como la totalidad de fenómenos mórbidos producidos por un estado de reactividad alterada.

Los criterios más precisos para diferenciar Granulomatosis de Wegener y Granuloma Alérgico están planteados ya en el trabajo original de Churg y Strauss⁷ así:

- 1 — Los pacientes padecían asma grave.
- 2 — Presentaban una acentuada eosinofilia aunque no estrictamente constante.
- 3 — Mostraban tendencia a la afección cardíaca.
- 4 — Las lesiones de las vías respiratorias eran menos intensas y de menor gravedad.

La sobrevivencia más larga a que se refieren Churg y Strauss en "Gra-

nulomatosis alérgica" no se cumple en nuestro caso que evoluciona fatalmente en cinco meses.

Las lesiones cutáneas y de ganglios linfáticos aunque se pueden observar en algunos casos de Wegener son mucho más frecuentes y graves en el Granuloma Alérgico llegando a causar grandes adenomegalias abdominales como en el caso descrito por Sokolov y col.²²

Las lesiones renales más severas y definidas en el Wegener constituyen un dato diferencial importante.

Abell y col.²³ refieren en 1970 un paciente de 53 años de Granuloma-

tosis alérgica que fue gastrectomizado por el severo compromiso a ese órgano.

En esta entidad Paronetto⁸ indica que las investigaciones inmunohistoquímicas revelan gamma-globulina y complemento en la pared de los vasos y en tejido conectivo perivascular y la presencia de fibrinógeno en las paredes vasculares y en nódulos extravasculares. En 1970 Merino, Grasés y Miliani²⁴ informan una hipergamma-globulinemia tipo A de 966 mg.% en un paciente de 45 años de edad con esta Granulomatosis, dato de gran interés que no fue investigado en nuestro paciente.

RESUMEN

1. Se estudian 3 casos de Angitis Necrotizante Sistémica no Supurativa: un hombre de 36 y una mujer de 58 años con Granulomatosis de Wegener y un hombre de 30 años con Granulomatosis Alérgica del tipo descrito por Churg y Strauss.
2. Se prefiere el nombre de Angitis Necrotizante Sistémica no Supurativa como lo ha hecho Paronetto cuando trata este capítulo desde el punto de vista inmunopatológico.
3. Consideran los autores que la lesión renal es la Periglomerulitis Granulomatosa Parahiliar y que su presencia ya en la biopsia tiene gran valor diagnóstico.
4. Se subraya que el cuadro clínico, la marcada eosinofilia tisular y la presencia de imágenes micro-multinodulares en el ganglio linfático como la de nuestra Fig. 9b, apoyan sólidamente un diagnóstico de Granulomatosis Alérgica de la forma descrita por Churg y Strauss.
5. Se hace una amplia revisión bibliográfica.

SUMMARY

1. Three cases of Systemic Nonsuppurative Necrotizing Angiitis are studied: a 36 year old man and a 58 year old woman with Wegener's Granulomatosis, and a 30 year old man with Allergic Granulomatosis of the Churg-Strauss type.
2. The name Systemic Nonsuppurative Necrotizing Angiitis is preferred for these type of diseases, following Paronetto's nomenclature.⁸
3. In our opinion, the parahilar-granulomatous - periglomerulitis is the initial change and should thus be considered as a very valuable clue for the diagnosis in biopsy material.
4. It is stressed that the clinical picture, the notorious tissular eosinophilia and the existence of histological multimicronodular images in lymph nodes, such as the one shown in figure 9b, give strong support to the diagnosis of Allergic Granulomatosis.
5. — An extense review of the literature is made.

REFERENCIAS

1. Rokitsansky, C.: **In: Manual of Pathological Anatomy**, trans. by G. E. Day. London, 1852.
2. Kussmaul, A., and Maier, R.: **Deutsches Arch Klin. Med.** 1: 474, 1866.
3. Klinger, H.: **Grenzformen der Periarthritis Nodosa**. Frankfurt, Ztschr. Path. 42: 455, 1931.
4. Wegener, F.: **Über eine eigenartige rhinogene Granulomatose mit besonderer Beteiligung des Arterien Systems und der Nieren**. Beitr. Path. Anat. 102: 36, 1939.
5. Godman, G. C., and Churg, J.: **Wegener's Granulomatosis**. A.M.A. Arch. Path. 58: 533, 1954.
6. Carrington, Ch. B., and Liebow, A.: **Limited forms of Angiitis and Granulomatosis of Wegener's type**. Am. J. Med. 41: 497, 1966.
7. Churg, J., and Struss, L.: **Allergic Granulomatosis, Allergic Angiitis an Periarthritis Nodosa**. Am. J. Path. 27: 277, 1951.
8. Paronetto, F.: **Systemic Nonsuppurative Necrotizing Angiitis**. In: Miescher, P. A., and Müller-Eberhard, H. J.: **Textbook of Immunopathology**. Grune and Stratton, Vol. II: 722, 1969.
9. Walton, E. W.: **Giant-cell Granuloma of the Respiratory Tract**. (Wegener's Granulomatosis). Brit. Med. J. ii: 265, 1958.
10. Reed, W. B.: **The Cutaneous Manifestations of Wegener's Granulomatosis**. Acta Dermatoven. 43: 250, 1963.
11. Levine, H., and Madden, T. J.: **Wegener's Granulomatosis**. Am. Heart J. 53: 632, 1957.
12. Tuhy, J. E., Maurice, G. L., and Niles, N. R.: **Wegener's Granulomatosis**. Am. J. Med. 25: 638, 1958.
13. French, W. O., and Civin, W. H.: **Cholesterol Pneumonitis and Wegener's Granulomatosis**. Arch. Int. Med. 97: 798, 1956.
14. Cassan, S. M., Coles, D. T., and Harrison, E. G.: **The concept of limited forms of Wegener's Granulomatosis**. Am. J. Med. 49: 366, 1970.
15. Elsner, B., and Fleming, B. H.: **Disseminated Wegener's Granulomatosis with Breast involvement**. Arch. Path. 87: 544, 1969.
16. Hoch, C. W.: **Wegener's Granulomatosis**. A. M.A. Arch. Otolaryng. 63: 120, 1956.

17. Drachman, D. A.: **Neurological Complications of Wegener's Granulomatosis**. Arch. Neurol. 8: 145, 1963.
18. Federman, D. D., and Castleman, B.: **In Neurologic Clinicopathological conferences of the Mass. Gen. Hosp. by B. Castleman and E. P. Richardson**. Little. Brown Co., 1968. Case 37, p. 199.
19. Burston, H. H.: **Lethal Midline Granuloma: Is it a pathological entity?** Laryngoscope, 69: 93, 1959.
20. Fahey, J. L., Leonard, E., Churg, J., and Godman, G.: **Wegener's Granulomatosis**. Am. J. Med. 17: 168, 1954.
21. Castleman, B., and McNeely, B. U.: **Case Records, of the Mass. Gen. Hosp.** Case 60.
22. Vinijchaikul, K., and Blackburn, W. R.: **Takayasu's Arteriopathy**. Bull. Internat. Acad. Path. 10: 3, 1969.
23. Restrepo C., Tejada, C., and Correa, P.: **Non-syphilitic Aortitis**. Arch. Path. 87: 1, 1969.
24. Méndez, O., Argáez, C., y Gaitán, A.: **Púrpura Trombótica Trombocitopénica**. Tribuna Médica. Col. 33: junio 30, 1969.
25. Budzilovich, G. N., and Wilens, S. L.: **Fulminating Wegener's Granulomatosis**. Arch. Path. 70: 653, 1960.
26. Capizzi, R. L., and Bertino, J. R.: **Methotrexate Therapy of Wegener's Granulomatosis**. Ann. Int. Med. 74: 74, 1971.
27. Sternberg, T. H., Reynolds, J., and Zeilenga, R. H.: **Pathergic Granulomatosis**. A.M.A. Arch. Dermat. 75: 368, 1957.
28. Sokolov, R. A., Rachmaninoff, N., and Kaine, H. D.: **Allergic Granulomatosis**. Am. J. Med. 32: 131, 1962.
29. Abell, M. R., Limond, R. V., Blamey, W. E., and Martel, W.: **Allergic Granulomatosis with massive gastric involvement**. The New Engl. J. Med. 282: 665, 1970.
30. Merino, F., Grasés, P. J. y Miliani, E.: **Angiitis Granulomatosa**. Acta Médica Venezolana, 17: 15, enero-febrero, 1970.
31. Kassel, S. H., Echevarría, R. A., and Guzzo, F. P.: **Midline Malignant Reticulosis (So-called Lethal Midline Granuloma)**. Cancer, 23: 921, 1969.
32. Geist, R. M., and Mullen, W.: **Roentgenologic Aspects of Lethal Granulomatous ulceration of the Midline Facial Tissues**. Am. J. Roentgenol. 70: 566, 1953.
33. Kormblun, D., and Fiemberg, R.: **Roentgen Manifestations of Necrotizing Granulomatosis and Angiitis of the Lungs**. Am. J. Roentg. Radium Therapy and Nuclear Med. 74: 587, 1955.
34. Zeek, P. M.: **Periarteritis Nodosa: A critical review**. Am. J. Clin. Path. 22: 777, 1952.
35. McCombs, R. P.: **Systemic "Allergic" Vasculitis**. J.A.M.A., 194: 157, 1965.

Inmuno-electro-precipitación

NUEVO PROCEDIMIENTO DE VISUALIZACION DE REACCIONES ANTIGENO - ANTICUERPO

Doctores: MIGUEL GUZMAN *

ERNESTO BARBOSA **

Señorita: ELIZABETH CASTAÑEDA ***

INTRODUCCION

El presente trabajo tiene por objeto presentar y discutir un procedimiento nuevo para la detección y estudio de reacciones antígeno-anticuerpo.

MATERIAL Y METODOS

1 — Antígenos:

a) Los antígenos micóticos fueron preparados con cepas diferentes de *Sporothrix schenckii*, *Paracoccidioides brasiliensis* y *Aspergillus fumigatus*; de los dos primeros solamente antígenos levaduriformes.

b) El antígeno viral usado en algunas reacciones fue vacuna antirrábica gentilmente suministrada por el doctor Guillermo Mendoza del Laboratorio de Producción de Vacuna Antirrábica del INPES.

c) La toxina diftérica usada en algunas reacciones fue toxina standard suministrada por el doctor Alvaro

Aguilera del Laboratorio de Producción de D.P.T. del INPES.

d) Las nucleo-proteínas usadas en algunas reacciones fueron preparadas por el doctor Gabriel Cerón.

2 — Sueros inmunes:

Los sueros usados en las pruebas con antígenos micóticos fueron obtenidos por inoculaciones repetidas de los antígenos respectivos en animales de experimentación.

a) Los sueros hiperinmunes antirrábicos fueron preparados en caballo y suministrados por el Laboratorio de producción de vacuna antirrábica INPES.

b) Los sueros antidiftéricos fueron obtenidos en conejos y suministrados por el Laboratorio de Producción D.P.T. - INPES.

c) Los sueros usados en las reacciones antinucleoproteínas fueron sueros de pacientes con Lupus Eritematoso clínicamente activo gentilmente suministrados por el doctor César Mendoza del Hospital San Juan de Dios de Bogotá.

* Jefe Sub-Grupo Microbiología e Inmunología INPES. Profesor Asociado de Inmunología. Fac. Med. U. Nal.

** Jefe Grupo Bioquímica INPES. Profesor Asociado de Bioquímica. Fac. Med. U. Nal.

*** Lic. en Microbiología - INPES.

3 — Medio de soporte:

En las reacciones descritas se usó como medio de soporte Agar Noble (Difco) y buffer de veronal pH 8.6.

4 — Sueros controles:

Se usaron como control sueros de animales no infectados y sueros de personas supuestamente sanas.

5 — Electroforesis:

Se utilizó para las pruebas de inmunoelectroprecipitación una cámara Beckman con fuente de poder, igualmente Beckman.

Los antígenos levaduriformes de **Sporothrix schenckii** fueron preparados de acuerdo a la técnica descrita por Karlin y Nielsen⁵ (1970). Los antígenos de fase levaduriforme de **Paracoccidioides brasiliensis** fueron preparados según la técnica descrita por Restrepo y Schneidau¹⁰ (1967), los antígenos de **A. fumigatus** fueron preparados según la técnica dada por Pepys y colaboradores⁸ (1959). Los sueros hiperinmunes se obtuvieron mediante inoculaciones adecuadas de los agentes correspondientes a Cobayos; cuando se consideró que los animales tenían niveles adecuados de anticuerpos, se practicó en ellos pruebas de hipersensibilidad retardada mediante inoculación intracutánea de 0.1 ml. de una suspensión al 1:100 en solución salina del antígeno correspondiente, en un área abdominal previamente rasurada; como control se utilizó 0.1 ml. del medio correspondiente en el cual se preparó el antígeno, los animales que presentaron una reacción positiva; a

las 24-48 horas, fueron sangrados, el suero obtenido se adicionó de Merthiolate al 1:10.000 y se congeló a -20° C. para uso posterior.

El medio soporte se preparó con Agar Noble (Difco) al 1.5% en buffer de veronal pH 8.6; una vez fundido, se repartió en tubos independientes en cantidades de 10 ml. guardándose a 4° C para ser usados en el momento oportuno. Placas de vidrio de 6 x 10 cms desengrasadas y limpias se cubrieron con fina capa de agar adhesivo dejándose secar en la estufa a 37° C; cuando éstas estuvieron listas, se fundió el agar, previamente preparado, y una vez que éste estuvo en una temperatura de 50° C, se le adicionó el antígeno correspondiente sin diluir en forma tal que finalmente quedara a una concentración del 20% (0.2 ml. de antígeno por ml. de agar fundido), rotándose fuertemente en las manos para lograr una distribución homogénea en el medio y vertiéndose inmediatamente sobre las láminas de vidrio colocadas sobre una mesa nivelada. Una vez que éstas estuvieron solidificadas, se guardaron en nevera por 30 minutos para permitir una mejor estabilización del antígeno en el agar; posteriormente se hizo un orificio de 1.5 mm. x 3 mm. con un dispositivo similar al usado en inmunoelectroforesis sobre un patrón como el que se muestra en la Fig. N° 1; en cada uno de estos orificios se colocó con jeringa Hamilton 2 microlitros de suero así: en el primer orificio, suero puro homólogo del antígeno incorporado; en el segundo y tercer orificios, sueros no homólogos, y en el cuarto en suero control negativo pa-

ra el antígeno incorporado, las placas fueron puestas en la cámara Beckman con buffer veronal pH 8.6 y sometidos a electroforesis por 90 minutos a 250 voltios de corriente continua, al término de los cuales fueron observadas para anotar los resultados obtenidos. Para conservación permanente las placas fueron lavadas con solución salina durante 18 horas, secadas en estufa a 37°C y coloreadas por 10 minutos en Amido-Black al 0.75% en Metanol-agua-ácido acético (70:20:10) decolorados varias veces en una solución lavadora metanol-agua-ácido acético (70:20:10) y secadas en una estufa a 37°C.

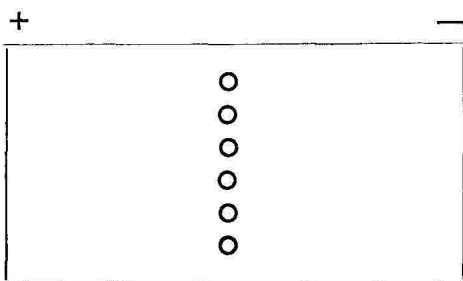


Figura 1

Esquema que muestra la localización de los orificios para colocar las muestras de sueros en la placa de agar.

RESULTADOS

Los sueros obtenidos de animales, y estudiados por técnicas de doble inmunodifusión, tipo Ouchterlony⁷ (1953) fueron positivos entre las 48-96 horas, presentando líneas de precipitación aparente, como puede verse en la Fig. N° 2 correspondiente a una reacción de un suero obtenido por inoculación de *A. fumigatus* en cobayo probado frente a antígeno del mismo hongo, pueden verse allí

cuatro bandas de precipitación. En la inmunoelectroprecipitación, una vez finalizado el paso de la corriente, se observa en los casos positivos sobre la zona de migración de las inmunoglobulinas, un cono de precipitación aparente, no presentándose reacción cruzada entre los sueros y antígenos probados. Como puede observarse en la Fig. N° 3 correspondiente a sueros anti-*Aspergillus fumigatus* contra el antígeno correspondiente, una vez coloreada la placa, se aprecian claramente las mismas cuatro bandas de precipitación dispuestas sobre la zona de migración de las inmunoglobulinas e imbricadas una a continuación de la otra.

DISCUSION

La búsqueda de reacciones rápidas, sencillas y específicas, tanto para el diagnóstico como para el estudio de sistemas antígeno-anticuerpo es siempre deseable. En el diagnóstico de las entidades Micóticas, el uso de las reacciones de inmunodifusión tipo Ouchterlony⁷ (1953) ha sido amplia y exitosamente usado por sencillez y especificidad en un buen número de entidades tales como Blastomycosis Norteamericana, Abernathy y Heiner¹ (1961). Histoplasmosis Hainer² (1958), Schubert, Lynch y Ajello¹¹ (1961) Coccidioidomycosis, Huppert y Bailey⁴ (1963), Paracoccidioidomycosis, Restrepo⁹ (1966). Sin embargo, esta reacción toma un tiempo variable entre 24-96 horas; la reacción aquí descrita, cuya utilidad como prueba "screening" puede ser importante por la ventaja de poderse procesar simultáneamente gran

cantidad de muestras obteniéndose un resultado rápido, conservando la misma especificidad, ya que se trata de la precipitación en un medio de soporte de las proporciones óptimas de antígeno-anticuerpo, en este caso al ser incorporado homogéneamente el antígeno en el medio y someter el suero problema a una electroforesis se obliga que las inmunoglobulinas se separen y migren concentradas en una dirección, dándoseles la oportunidad de que encuentren y reaccionen rápidamente con el antígeno incorporado en el medio, los aspectos físicos sobre los cuales se basa esta reacción, son similares a los descritos por Laurell⁶ (1966) y similares a los presentados por Culliford² (1964); como muestra la Fig. N° 4, la electroforesis combina-

da aquí, permite una concentración de las inmunoglobulinas sobre una sola zona, lo cual hace más posible que cantidades muy escasas de anticuerpos se concentren dando una reacción positiva, aumentándose así la sensibilidad de la reacción. Aunque aquí se presenta la reacción más en detalle utilizando antígenos obtenidos de hongos, fundamentalmente compuestos por polisacáridos, la prueba es útil también en todos aquellos casos en que un antígeno soluble pueda ser adecuadamente incorporado en el medio como en caso de virus de la rabia, como puede verse en la (Figura N° 5), o de nucleoproteínas frente a sueros de pacientes en lupus eritematoso (Figura N° 6), o de toxina diftérica frente a su antisuero homólogo (Figura N° 7).

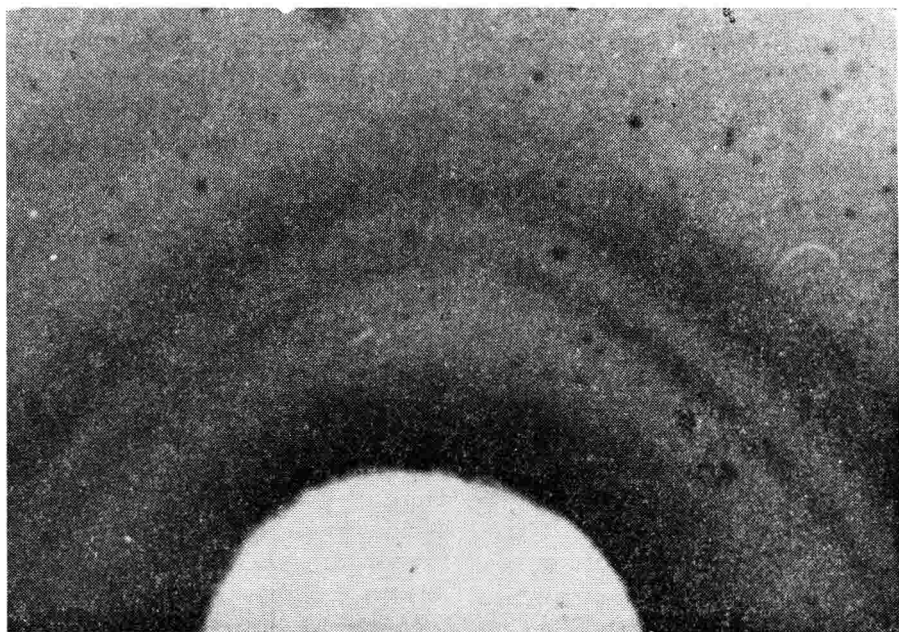


Figura 2

Fotografía que muestra una prueba de doble inmunodifusión. En el orificio central se colocó un suero Anti-A. fumigatus, en los orificios periféricos se colocaron antígenos de A. fumigatus. Nótese la presencia de por lo menos 4 bandas de precipitación.



Figura 3

Fotografía que muestra una prueba de inmunolectroprecipitación. En el agar se incorporó el antígeno de *A. fumigatus*, en los orificios se colocó suero hiperinmune. Nótese la presencia de múltiples bandas de precipitación en la zona de migración de las inmunoglobulinas.

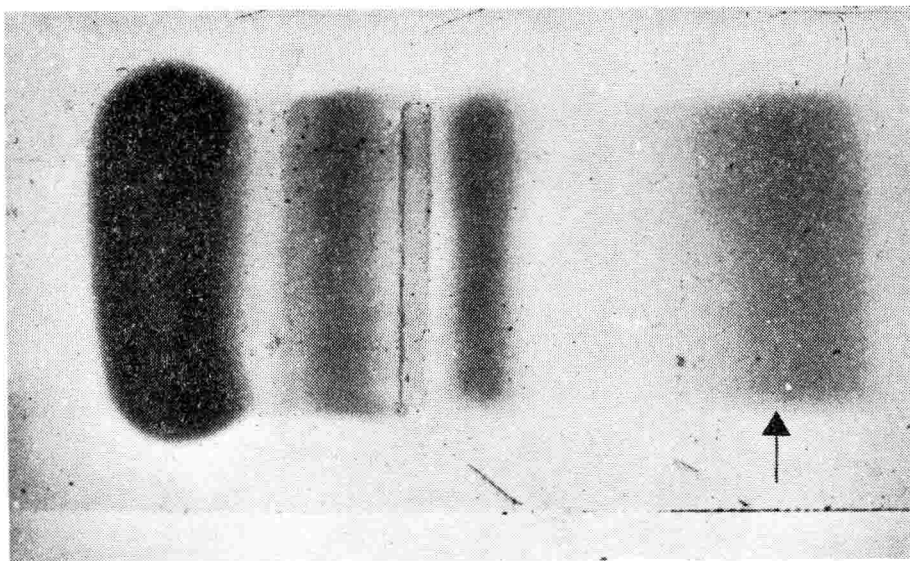


Figura 4

Fotografía que muestra una electroforesis en agar para señalar la concentración de inmunoglobulinas en una zona, técnica que se combina con la inmunoprecipitación.

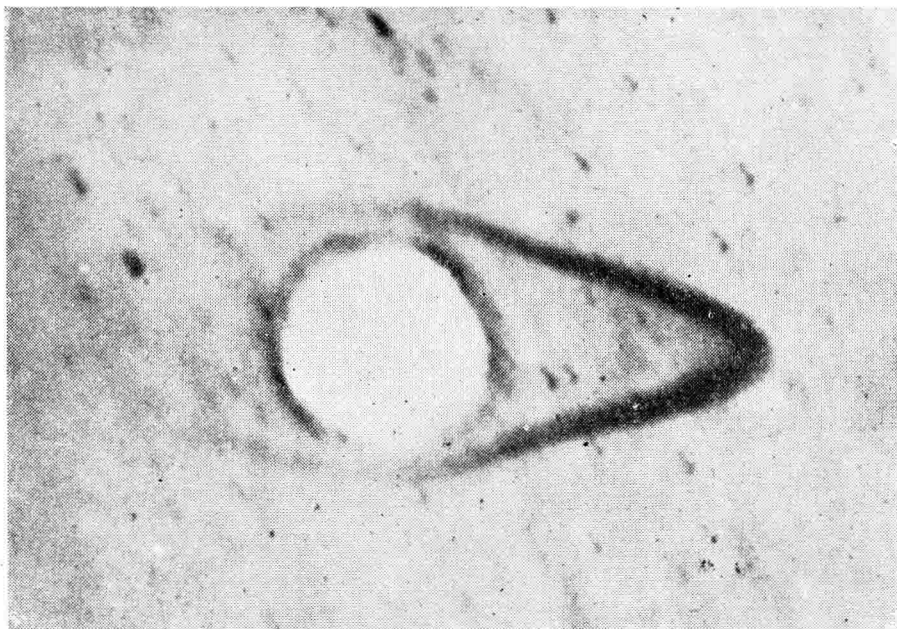


Figura 5

Fotografía que muestra una reacción de inmunolectroprecipitación con virus de la rabia, el virus (vacuna antirrábica) fue incorporado en agar, el anti-suero homólogo se colocó en el orificio y se sometió a electroforesis; nótese la clara banda de precipitación.

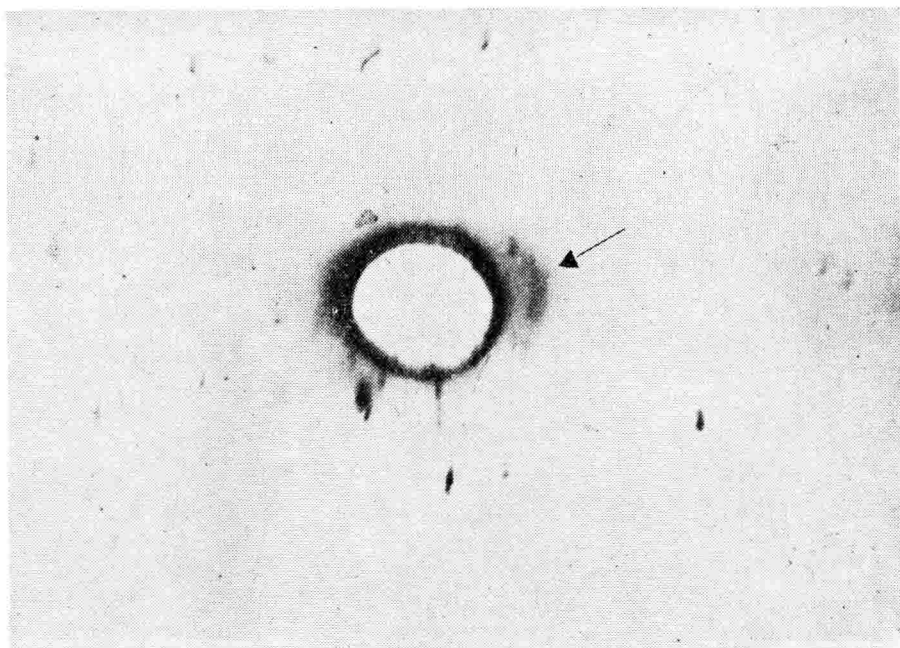


Figura 6

Fotografía que muestra una reacción de inmunolectroprecipitación con nucleoproteína incorporada en el agar, el suero en el orificio es de un paciente con LES. Nótese la banda de precipitación.

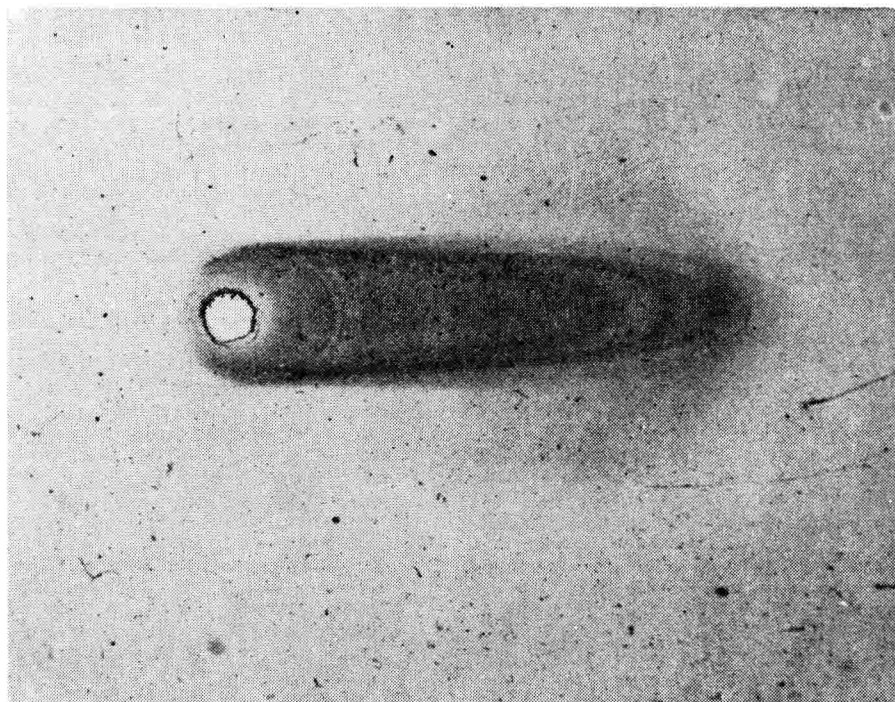


Figura 7

Fotografía que muestra una reacción de inmunoelectroprecipitación con toxina diftérica incorporada en el agar; la antitoxina homóloga se colocó en el orificio. Nótese las múltiples bandas de precipitación.

RESUMEN

Se presenta una técnica para detección de reacciones antígeno-anticuerpo en agar, combinando con elec-

troforesis. La prueba denominada de Inmuno - electroprecipitación puede ser útil en diagnóstico.

SUMMARY

An Immunoelectroprecipitin tests is described and its applicability in the diagnosis is discussed.

REFERENCIAS

1. Abernathy, R. S. and Heiner, D. C.: **Precipitation reaction in agar in North American Blastomycosis.** J. Lab. Clin. Med. 51: 604-611, 1961.
2. Culliford, Bryan, J.: **Precipitin reaction in forensic problems.** Nature, 201: 1.092, 1964.
3. Heiner, D. C.: **Diagnosis of Histoplasmosis using precipitin - reaction in agar gel.** Pediatrics, 22: 616-627, 1958.
4. Huppert, M. and Bailey, J. W.: **Immunodiffusion as a screening test for coccidioidomycosis serology.** Sabouraudia, 2: 284-291, 1963.
5. Karlin, J. V. and Nielsen, H. S., Jr.: **Serologic Aspects of Sporotrichosis.** J. Infect. Dis. 121: 316-327, 1970.
6. Laurell, C. B.: **Quantitative estimation of protein by Electrophoresis in agarose-gel containing antibodies.** Anal. Biochem. 15: 45-52, 1966.
7. Ouchterlony, O.: **Antigen-antibody reaction in gels: IV Types of reactions in coordinated system of diffusion.** Acta Path. et Microbiol. Scandinav. 32: 231-240, 1953.
8. Pepys, J.; Ridell, R. W.; Citron, K. M. Clayton, Y. M. and Short, E. I.: **Clinical and Immunologic significance of Aspergillus fumigatus in the Sputum.** Am. Rev. Resp. 80: 167-180, 1959.
9. Restrepo, A.: **La prueba de Inmunodifusión en el diagnóstico de la Paracoccidioidomycosis.** Sabouraudia, 4: 223-230, 1966.
10. Restrepo, A. and Schneidau, Jr., J. D.: **Nature of the Skin-reactive principle in culture filtrates prepared from Paracoccidioides brasiliensis.** J. Bact. 93: 1.741-1.748, 1967.
11. Schubert, J. H.; Lynch, H. S. and Ajello, L.: **Evaluation of the agar plate precipitin test for histoplasmosis.** Am. Rev. Resp. Dis. 84: 845-849, 1961.

Obtención de suero Mono-específico

Anti-IgG preparado con antígenos

purificados por electroenfoque

Doctores: MIGUEL A. GUZMAN*
ERNESTO BARBOSA**

INTRODUCCION

El siguiente trabajo tiene por objeto presentar y discutir la técnica de obtención de sueros mono-específicos Anti-Inmunoglobulina G preparados con antígenos purificados por Electroenfoque.

MATERIALES Y METODOS

Antígenos:

La Inmunoglobulina G, utilizada como antígeno fue obtenida y purificada a partir de una mezcla de sueros de personas supuestamente sanas.

Animales de Experimentación:

Para la producción de los sueros monoespecíficos se utilizaron conejos adultos.

Portadores de Anfólitos

Para la separación y purificación del antígeno (IgG) se utilizó un anfólito de un espectro de pH 7-10 comercialmente obtenido.

Sueros Hiperinmunes:

El antisuero humano total fue obtenido en cabra, según la técnica descrita por Proom¹.

* Jefe Sub-Grupo Microbiología e Inmunología INPES; Profesor Asociado, Inmunología Fac. Med. U. Nal.

** Jefe Grupo Bioquímica INPES; Profesor Asociado Bioquímica, Fac. Med. U. Nal.

Suero Normal:

El suero humano normal utilizado para obtener la IgG fue una mezcla de muestras de sueros de 50 voluntarios supuestamente sanos.

Estudio Inmunoelectroforético:

Los estudios inmunoelectroforéticos realizados fueron hechos en un sistema LKB de acuerdo a la técnica de Grabar y Williams².

Columna Electrofocal:

Para los estudios de electroenfoque se utilizó una columna Electrofocal LKB 8101 de 110 ml. de capacidad y una fuente de poder Beckman.

La obtención de suero normal se hizo mediante la toma de 10 ml de sangre de cada uno de 50 voluntarios, después de la retracción del coágulo los sueros fueron colectados, centrifugados y mezclados; de dicha mezcla se retiró una cantidad igual a 3 ml. para ser usada en el estudio Electrofocal, el resto de suero fue guardado en el congelador a -20° C. para ser usado posteriormente.

La columna fue montada, de acuerdo a las especificaciones dadas por Haglund³. El gradiente de pH junto con la proteína fue obtenido mediante un dispositivo mecánico, un

total de 3 ml. de la mezcla de sueros fue puesto en columna, los electrodos fueron dispuestos en forma tal que el cátodo quedase en el electrodo central con el objeto de que en la parte final de la columna quedasen los puntos Isoeléctricos entre 7 y 10 y así poder obtener las fracciones de Inmunoglobulina G evitando su contaminación al descargar la columna. Una vez montada la columna se sometió a una corriente continua de 500 voltios por 72 horas, tiempo considerado como óptimo para obtener un buen electroenfoque; al término de este tiempo, la columna fue desocupada en fracciones de 1 ml. mediante un colector automático de fracciones.

El pH de todas las fracciones obtenidas fue determinado en un potenciómetro Beckman de investigación con microelectrodos usando una cámara termomática a 18° C. Las fracciones con pH entre 7.62 - 8.92 (25 fracciones) fueron separadas para analizarse inmuno-electroforéticamente con el objeto de determinar si contenían Inmunoglobulina G. Una vez realizados estos estudios, las fracciones fueron mezcladas y usadas para la obtención de antisuero en conejos adultos, un total de 4

conejos fue inoculado I.M. 2 veces por semana con 0.5 ml. de la mezcla en adyuvante incompleto de Freund durante 4 semanas, al término de las cuales se tomó una muestra de sangre en la vena de la oreja para obtener suero y determinar inmuno-electroforéticamente si contenían niveles adecuados de anti-inmunoglobulinas G. Posteriormente los conejos fueron sangrados a muerte, el suero obtenido asépticamente fue adicionado de Merthiolate al 1:10.000 y guardado en congelador a -20° C. para ser usado posteriormente.

RESULTADOS

Como puede verse en la tabla N° 1 el pH de las fracciones Nros. 12 a 36 están comprendidas entre 7.62-8.92 rango que cubre el punto isoeléctrico de la Inmunoglobulina G., la figura N° 1 muestra claramente el gradiente de pH obtenido. Como puede verse, en la figura N° 2 el estudio inmuno-electroforético de la mezcla de estas fracciones frente a un suero antihumano y comparado con un control de suero humano total muestra una banda nítida de Inmunoglobulina G pura. Los sueros de los conejos estimulados usando como antígeno dicha mezcla de frac-

CUADRO N° 1
VALORES DE pH DE LAS FRACCIONES 12-36 QUE CONTIENEN IgG
Gradiente de pH de fracciones positivas para inmunoglobulina G.

Fracción N°	pH	Fracción N°	pH	Fracción N°	pH
12	7.62	21	8.17	30	8.69
13	7.65	22	8.19	31	8.71
14	7.70	23	8.20	32	8.74
15	7.92	24	8.29	33	8.87
16	7.99	25	8.42	34	8.89
17	8.06	26	8.42	35	8.90
18	8.14	27	8.54	36	8.92
19	8.16	28	8.57		
20	8.17	29	8.57		

ciones dieron una respuesta de anticuerpo altamente específico, como puede verse en la figura N° 3 en que un suero humano normal fue estudiado inmunolectroforéticamente usando como antisuero, suero obtenido en la forma anteriormente descrita, puede verse por comparación con antisuero humano total que el suero anti-Inmunoglobulina G es claramente monoespecífico toda vez que solo se ve una banda de precipitación correspondiente a la zona de la Inmunoglobulina G.

GRAFICA DEL GRADIENTE DE pH

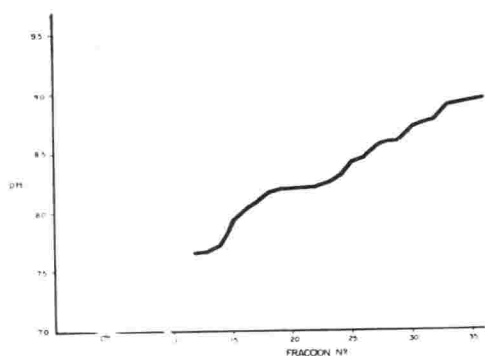


Figura 1

Gráfica que muestra el gradiente de pH.

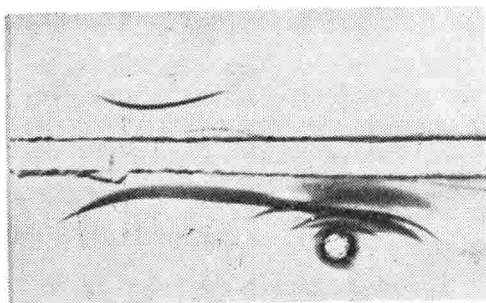


Figura 2

Inmunolectroforesis de la mezcla de fracciones positivas para IgG frente a suero anti-humano total. Nótese que la banda de precipitación de la mezcla es IgG pura.

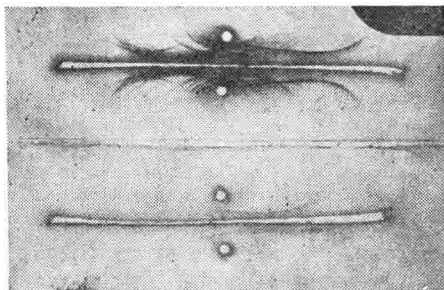


Figura 3

La parte inferior muestra una inmunolectroforesis de suero humano total con el antisuero obtenido, nótese que es claramente monoespecífico para IgG, identificada por comparación en la inmunolectroforesis superior con suero antihumano total.

DISCUSION

El múltiple uso de los sueros monoespecíficos anti-Inmunoglobulinas humanas, tiene actualmente gran importancia para la determinación de estas Inmunoglobulinas tanto en clínica humana^{4 5 6}, como en estudios inmunológicos básicos^{7 8 9 10}, por tanto se hace indispensable que se cuente con procedimientos de obtención de dichos anti-sueros en forma sencilla. El trabajo aquí presentado demuestra la ventaja del sistema electrofocal en la obtención de antígenos para preparación de

sueros homólogos específicos en forma ciertamente más sencilla que los procedimientos usuales^{11 12}. En un previo estudio¹³ se demostró que el anfólito no interfería para nada la reacción antígeno-anticuerpo, en el presente trabajo se demuestra además que este no afecta en nada la respuesta inmunitaria del huésped no siendo por lo tanto necesario remover dicho anfólito por diálisis, crítica que algunos^{14 15} hacen al uso de los anfólitos.

RESUMEN

La obtención y purificación de Inmunoglobulina G humana por el procedimiento de electro-enfoque; y su uso como antígeno en la produc-

ción de suero específico homólogo se presenta en este trabajo, la ventaja de este procedimiento frente a los usuales se discute.

SUMMARY

Obtention and purification of IgG by electrofocusing column and its use as an antigen to elicit homolo-

gous antibodies in rabbits are presented in this paper. The advantages of this procedure are discussed.

AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestro agradecimiento a la señorita Elizabeth

Castañeda por su valiosa cooperación.

REFERENCIAS

1. Proom, H. 1943: The preparation of precipitating sera for identification of animal species. *J. Path. Bact.* 55: 419-426.
2. Grabar, P. and Williams, C. A. 1953: Méthodes permettant l'étude Conjuguée des propriétés électrophorétiques et immunochimiques de un mélange de protéines. Application au serum sanguin *Biochim. Biophys. Acta* (Amst.) 10: 193-194.
3. Haglund, H. 1967: Isoelectric focusing in natural pH gradients. A technique of growing importance for fractionation and characterization of proteins. *Science Tools* 14 (2): 17-24.
4. Darcy, D. A. 1960: A Quantitative application of the agar-diffusion plate. The estimation of specific proteins in serum. *Immunology* 3: 325-335.
5. Kingdon, L. and Shanbrom E. 1967: Immunodiffusion Techniques in Clinical Medicine. *J. A. M. A.* 200: 323.
6. Simmons, P., Penny, R. and Goller I. 1969: Plasma Proteins: A Review. *Med. J. Australia* 2: 494-506.
7. Laurell, C. B. 1966: Quantitative estimation of Protein by electrophoresis in agarose-gel containing antibodies. *Anal. Biochem.* 15: 45-52.
8. Fahey, J. L. and Mckelvey, E. M. 1965: Quantitative Determination of Serum Immunoglobulins in Antibody Agar-plates. *J. Immunol.* 94: 84-94.
9. Mancini, G., Carbonara, A. O. and Heremans, J. I. 1965: Immunochemical Quantitation of Antigens by Single Radial Immunodiffusion. *Int. J. Immunochem.* 2: 235-254.
10. Crowle, A. J. *Immunodiffusion*. New York: Academic Press. 1961.
11. Sober, H. A., Gutter, F. J., Wyckoff, M. M. and Peterson, E. A. 1956: Chromatography of Proteins. II Fractionation of serum protein on Anion-exchange Cellulose. *J. Amer. Chem. Soc.* 78: 756-763.
12. Fahey, Y. L. and McLaughlin, C. 1963: Preparation of Antisera Specific for δ , ϵ , γ -Globulins, β , α Globulins γ -Macroglobulins and for Type I and II Common γ -Globulin determinants. *Immunol.* 91: 484-497.
13. Guzmán, M. A. y Barbosa, E. 1971: Estudio Imuno-Electrofocal de Proteínas Plasmáticas. *Rev. Microbiol. (Rio Janeiro)* 2 (3): 137-144.
14. Luners, S. J. and Kolin, A. 1970: New approach to isoelectric Focusing and fractionation of protein in a pH gradient. *Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash)* 66 (3): 898-903
15. Kolin, A. 1970: pH Gradient Electro-phoresis: in "Methods in Medical Research". Vol. 12: 326-358. (Year Book Medical Publishers, Inc.).

Síndrome de Turner

Doctores **EMILIO YUNIS T.**
EMILIA de DE LA CRUZ
GERMAN NIÑO MURCIA
Señorita **MYRIAM LEIVOVICI**

RECUESTO HISTORICO

Fue Morgagni quien por primera vez, en 1761, describió aplasia de los ovarios en una mujer de talla baja. En 1890 el alemán Neuhaus hizo otra descripción de pacientes similares¹. Posteriormente Kermanner en 1912 reunió los casos hasta ese entonces informados sin que lograra una clara definición del síndrome. Vienen luego las descripciones de Olivet en 1923², Meyer y Randerath en 1925³, Baer en 1927⁴, Shurman en 1927⁵, Rossee y Wallart en 1930⁶. Por esta misma época, en 1930, Ullrich describió el caso de una niña con ptosis bilateral, pterigium colli, línea de inserción del cabello baja en la región occipital, cubitus valgus, hipoplasia ungüal, talla baja⁷. Este mismo autor reunió varias pacientes con anomalías congénitas diversas y trató de dar a todas ellas una etiología única por analogía con la interpretación de Bonnevie de las malformaciones variables de la raza de ratones de Little-Bagg (estos ratones muestran un patrón de lesiones orgánicas variables cuyo origen fue explicado como producidas por una acción mecánica de vesículas de líquido cefalorraquídeo de carácter emigrante. Estos ratones son homocigotos para el gene recesivo "my" (myelencephalic blebs)⁸. A esta descripción se debe la nominación de algunas pacientes con este síndrome

como enfermedad de Bonnevie-Ullrich, que se conserva en algunos informes recientes.

Otros autores como Kuliga en 1930⁹, Priesel en 1931¹⁰, Graber en 1937¹¹ y Tronci en 1938¹², describieron claramente esta enfermedad. En 1938 Henry Turner¹³ describió su "triada" de infantilismo, cuello palmado y cubitus valgus, adoptándose desde entonces el nombre de síndrome de Turner para estas pacientes. Este autor creyó que las anomalías óseas y el infantilismo sexual eran similares a los de origen pituitario. Sharpey-Shafer¹⁴ en 1941 pensaron que el defecto era primordialmente de ovario, hipótesis confirmada por Varney¹⁵, Kenyon y Koch. A estos estudios se sumaron los de Albrigh¹⁶, Wilkins y Fleishman¹⁷, Lisser et al¹⁸.

En el estudio de Obermass¹⁹ se encuentra cómo Ullrich describió seis años antes la misma enfermedad descrita por Turner en 1938.

A raíz de la descripción por Barr y Bertram en 1949 del cuerpo de cromatina sexual en los núcleos interfásicos de células de mamíferos hembras se evidenció la ausencia de este cuerpo en muchas de estas pacientes fenotípicamente femeninas²⁰. Este hallazgo, sumado al hecho de una mayor incidencia de ceguera para el rojo y el verde, hicieron pensar en la posibilidad de un

cariotipo anormal. Polami, Lessof y Bishop²¹, sugirieron una constitución XO para estas pacientes, hipótesis que fue confirmada por Ford et al en 1959²².

Desde entonces han sido informados gran número de casos con disfunción gonadal y una gran variedad de cariotipos. Además de la monosomía XO puede existir una gran variedad de constituciones cromosómicas en pacientes con bastantes signos clínicos de síndrome de Turner. Tales son los mosaicos XX/XO, XO/XX/XXX, isocromosoma X, deficiencia parcial de un segmento de cromosoma, cromosoma X en anillo. En **todos** estos casos, siempre hay alguna lesión del cromosoma X.

A medida que aumenta el número de casos descritos se constata la gran incidencia de algunos signos comunes fundamentales, al tiempo que, algunos otros no se presentan con la misma frecuencia. Esto contribuye a confundir un tanto al clínico y a bloquear la investigación y el diagnóstico correcto de la entidad.

Fenotipo del Síndrome de Turner

El síndrome de Turner es el síndrome caracterizado por la falta total o parcial de sustancia en un cromosoma X, asociado, clásicamente con cuatro aspectos clínicos fundamentales, a saber: 1) Fenotipo femenino; 2) Corta estatura, con algunas excepciones; 3) Infantilismo sexual debido a gonadas anormales; 4) Una variedad de anomalías somáticas asociadas dentro de las cuales sobresalen el pterigium colli.

1) Fenotipo femenino: Salvo muy raras excepciones, las pacientes con síndrome de Turner presentan un fenotipo femenino. Este hecho tiene

su explicación en una serie de experimentos embriológicos en conejos y ratones realizados por Jost^{23, 24} los cuales mostraron que la expresión del fenotipo masculino o femenino depende estrictamente de la presencia o ausencia de testosterona. Así, si embriones XY son castrados en época temprana, los conductos de Müller automáticamente se diferencian en túbulos de Falopio y útero, en tanto que los conductos de Wolff, involucionan. Así, el embrión adquiere el fenotipo femenino.

Por otra parte, la administración de testosterona a embriones XY o XX castrados sostiene el desarrollo de los conductos de Wolff y su conversión a conducto deferente, epidídimo y vesícula seminal a la vez que dirige la transformación del seno urogenital, en próstata y pene.

De estos experimentos se desprende que el fenotipo femenino como tal es asumido en presencia o ausencia de ovarios. Por supuesto, debe entenderse fenotipo femenino en sentido básico y no como que se trata de desarrollo de caracteres sexuales secundarios, o fertilidad, etc.

La gran mayoría de estas pacientes tienen genitales externos femeninos infantiles. La hipertrofia del clítoris es un hallazgo raro. Estuvo presente en tres de nuestras pacientes; en dos de ellas con cariotipo XX/XO y la tercera restante con cariotipo XO/XY (Figura N° 3). El problema relativo a la constitución XO/XY y fenotipo compatible con Turner será discutido posteriormente.

2) Corta estatura: Este es un hallazgo casi universal en el síndrome de Turner. La altura máxima promedio alcanzada por las pacientes

es de 155 cm.²⁵. La más alta de nuestras pacientes mide 144 cm. y la estatura promedio en nuestro grupo es 130 cm. (Ver cuadro N° 1).

Como se sabe, una gran cantidad de patología endocrina, metabólica y nutricional puede retardar el crecimiento; sin embargo, para el síndrome de Turner no está claramente establecida su etiología.

Aun cuando inicialmente y basados en los hallazgos de valores altos (o normales) de hormona del crecimiento en pacientes con síndrome de Turner se creyó que el defecto consistía en una respuesta anormal de los tejidos a la hormona del crecimiento, resultando una falta de supresión (Feed-back) en los centros hipotalámicos, informes de estudios recientes^{25 26 27}, con técnicas más precisas en pacientes normales de control, demuestran que la secreción de dicha hormona es normal. De ahí que no se encuentre razón para pensar en la administración de esta hormona para la corrección de la corta estatura de estas pacientes. Los ensayos de este tipo han fracasado

^{28 29 30 31}

La relación entre función tiroidea y crecimiento, ha estado en cuestión a propósito del síndrome de Turner.

Aumento en la toma de yodo radioactivo³², y una mayor incidencia de tiroiditis³³ se han informado. Sin embargo, en general la función tiroidea es normal en el síndrome de Turner. De aquí que la administración de hormona tiroidea no aumente significativamente el crecimiento.

Los estudios del cartílago de crecimiento en pacientes con síndrome de Turner³⁴, han demostrado que este es semejante histológicamente al observado en las acondroplasias, donde las células del cartílago for-

man verdaderos nidos, rompiendo la arquitectura normal de este.

Actualmente parece que ningún factor hormonal, nutricional o metabólico explique directamente la corta estatura en el síndrome de Turner y que sea más bien la anomalía cromosómica la que afecte los tejidos o su potencial de crecimiento.

La detención en el crecimiento lineal de una paciente aparentemente normal, ha llegado a constituirse en un signo de un posible síndrome de Turner (mosaico). Hsu et al³⁵, informan dos pacientes, las cuales crecieron normalmente durante la primera década de la vida, observándose posteriormente retardo en el crecimiento y encontrándose en ellas un mosaicismo poco usual que comprometía cromosomas X.

3) Infantilismo sexual: Salvo muy raras excepciones existe una falla total de desarrollo sexual en las pacientes con síndrome de Turner.

Junto con la separación anormal de los pezones desde el nacimiento, y anomalías de los pezones mismos (inversión) existe una falta de desarrollo de las glándulas mamarias^{36 37}, sin presentar ningún cambio de pigmentación (ver Cuadro N° 6). El vello pubiano no aparece normalmente, o es muy escaso. Sin embargo, con el tratamiento estrogénico se produce desarrollo del vello pubiano con implantación femenina normal.

Los genitales externos son normales pero de conformación infantil, y a menos que haya tratamiento estrogénico, los frotis vaginales son de tipo atrófico. En estas pacientes es más frecuente la incidencia de flujos vaginales dada la anomalía del epitelio vaginal por hipoestrogenismo.

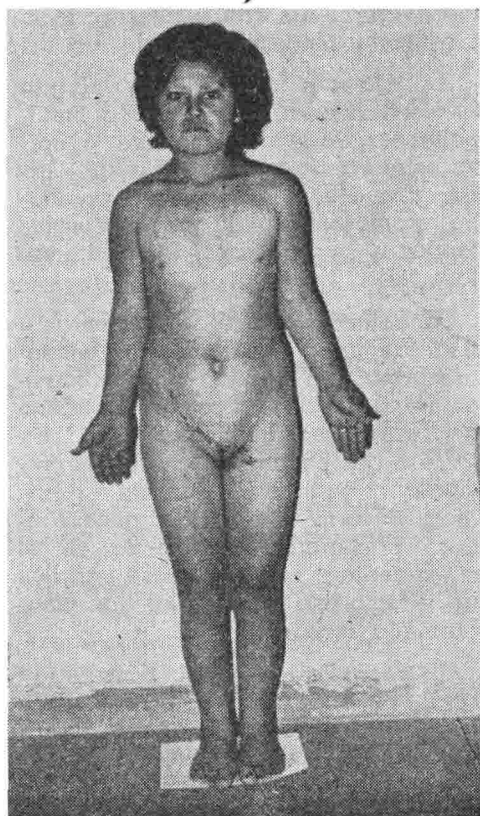


Figura 1

Paciente N. R. N° 1. Síndrome de Turner en una paciente de 17 años, talla 132 cm. Nótese el infantilismo sexual, la corta estatura, el cubitus valgus y la separación anormal de los pezones.

El útero y las trompas están hipodesarrollados. Casi siempre el útero se encuentra reducido a un simple nódulo, en ocasiones puede no existir o existir solo vestigios (ver figura N° 5).

Por regla general en los mesosalpinx se encuentra una estructura que corresponde a las gonadas. Estas estructuras gonadales tienen forma de cordones fibrosos pálidos. El examen histológico de estas estructuras se caracteriza por ausencia de folículos, acompañada de un gran

predominio de tejido fibroso, semejante al estroma ovárico normal. Es posible encontrar pacientes con síndrome de Turner cuyos ovarios presentan folículos. En general estos casos corresponden a cuadros de mosaicismo.

Conen y Glass³⁸ informan el caso de una recién nacida en la cual el ovario derecho era casi normal mientras que el izquierdo era de tamaño menor y con un pequeñísimo número de óvulos.

Teniendo en cuenta el cuadro histológico de las gonadas en el síndrome de Turner, tiene gran importancia un recuento del desarrollo



Figura 2

La misma paciente. Obsérvese la presencia de nevos pigmentarios, la posición de los pezones, el cuello corto y la alopecia de la parte central de las cejas.



Figura 3

Paciente M. P. N° 15. Síndrome de Turner. Cariotipo XO/XY. Obsérvese la hipertrofia del clitoris.

normal del ovario desde la etapa embrionaria hasta el nacimiento, comparándolo con los estudios de gonadas de abortos cuyo cariotipo era XO y con los pocos estudios hasta ahora disponibles de ovarios en los recién nacidos con cuadro clínico de síndrome de Turner.

Una vez se ha iniciado el desarrollo de la gonada en el embrión a partir del pliegue gonadal entre el mesenterio dorsal y el mesonefros y se ha producido la emigración de las células que posteriormente constituirán las células germinativas, empieza la diferenciación hacia ovario o testículo.

En el embrión femenino normal aparecen pequeños cuerpos llamados folículos primordiales, constituidos por una célula central u oogo-

nio rodeada de una capa única de células epiteliales foliculares o células granulosas. Al término del tercer mes se inician una serie de modificaciones (propriadamente de volumen celular) en estos oogonios, tendientes a la formación del oocito primario que iniciarán la profase de la primera división meiótica, meiosis que solo se completará en la pubertad.

El estudio de Singh et al³⁰ en abortos espontáneos con constitución cromosómica XO muestra la presencia de células germinativas en las gonadas de embriones y fetos. La interpretación histológica de estos tejidos hecha por Ohno reveló que "el déficit celular no era tanto



Figura 4

Paciente R. G. N° 7. Síndrome de Turner. Edad 19,6/12 años. Cariotipo XO. Obsérvese la implantación baja de las orejas, el cuello corto y palmeado, la falta de desarrollo de las glándulas mamarias, a la vez que su separación anormal.

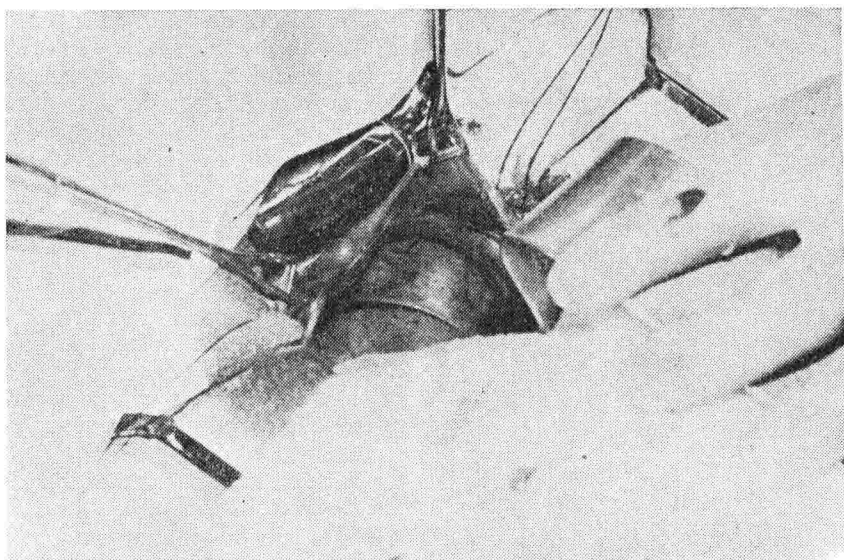


Figura 5

Hallazgos a la laparotomía de la paciente R. G. Obsérvese la presencia de las dos trompas, el pequenísimo tamaño del útero y la ausencia de ovarios normales.

de células germinativas sino de células foliculares. Debido a la escasez de células foliculares, las células germinativas que empiezan en la primera profase meiótica pueden no ser capaces de organizar folículos primordiales, sufriendo una degeneración, lo que aumenta la cantidad de tejido fibroso"³⁹.

Complementando lo anterior, el estudio histológico de los ovarios de una recién nacida con cuadro clínico de Turner y cariotipo XO⁴⁰ reveló células germinativas entremezcladas con células indiferenciadas más numerosas y más pequeñas. El número total de células germinativas fue mucho menor que el encontrado en un recién nacido normal. Los cambios degenerativos en las células germinativas consistieron en cambios vacuolares, citoplasmáticos con eosinofilia, picnosis nuclear, fragmentación y lisis.

Todo lo anterior da lugar a hipótesis diversas en cuanto al desarrollo gonadal en el síndrome de Turner. Es posible que la falta de desarrollo de las células foliculares lleve a una detención en el desarrollo de la oogonia, seguido de una degeneración celular a partir del tercer mes de desarrollo, ya que el desarrollo gonadal en el síndrome de Turner es completamente normal hasta ese momento. Al producirse una falla en la formación del oocito y por tanto del folículo, estas estructuras serían reemplazadas por tejido fibroso³⁸.

Queda, pues, que los cambios ováricos en el síndrome de Turner son de orden histogenético sin que esté resuelta cuál es la influencia del cromosoma X en estos eventos celulares.

Debido a los cambios anotados en los ovarios, la amenorrea primaria es un motivo de consulta muy fre-

cuenta en el síndrome de Turner. Siete de nuestras pacientes en edad puberal consultaron por amenorrea primaria. Su gran frecuencia debe hacer pensar en el síndrome de Turner en el diagnóstico diferencial.

A pesar de encontrarse gonadas fibrosas en la mayoría de los casos de síndrome de Turner. Sin embargo, el hallazgo de pacientes a quienes se les ha comprobado por laparotomía gonadas fibrosas y cuyo cariotipo es normal⁴¹, y de otras pacientes con cariotipo anormal a quienes se les ha encontrado ovarios con óvulos normales (en menor número)^{38 39 42}, presencia de menstruaciones en disgenesia gonadal⁴³ y el caso de Bahner⁴⁴ hacen que la predicción del estado gonadal basándose en el cariotipo no sea tan sencilla. (El estado gonadal puede ser modificado por otros factores distintos a los cromosómicos tales como el ambiente prenatal, autoinmunidad, agentes virales)⁴⁵.

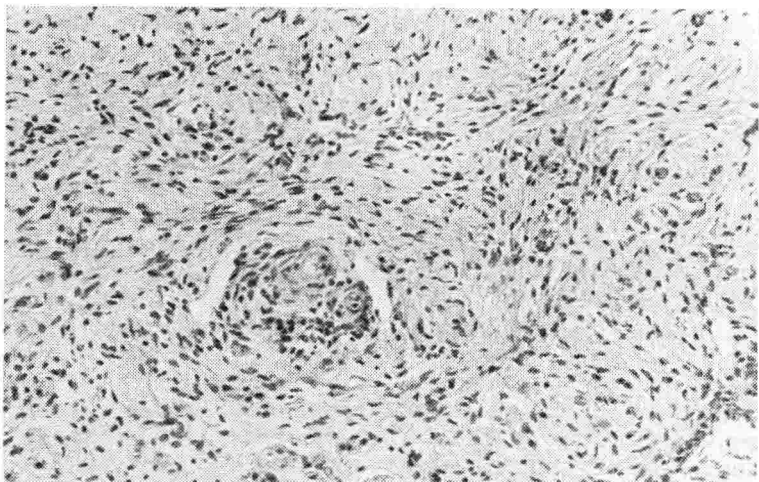
El hallazgo clínico de menarquia, telarquia y pubarquia en pacientes con disgenesia gonadal (algunas de ellas con cariotipo XO) en el estudio de McDonough et al⁴¹ hace que: 1. La presencia de menarquia, telarquia, etc., y luego ciclos regulares, no excluya una anomalía del cromosoma X. 2. El desarrollo de una amenorrea precoz debe llevar a una sospecha clínica de disgenesia gonadal (con anomalía o no de cromosoma X). En efecto ya son varios los informes en la literatura de pacientes que consultan por amenorrea secundaria precoz y a quienes se diagnostica un síndrome de Turner^{35 46 47 48}.

Existen en la literatura casos comprobados de síndrome de Turner⁴² en los cuales el orden usual de maduración sexual está distorsionado, existe hemorragia menstrual previa a los cambios en pezones o glándulas mamarias y previa a la iniciación del desarrollo del vello pubiano.

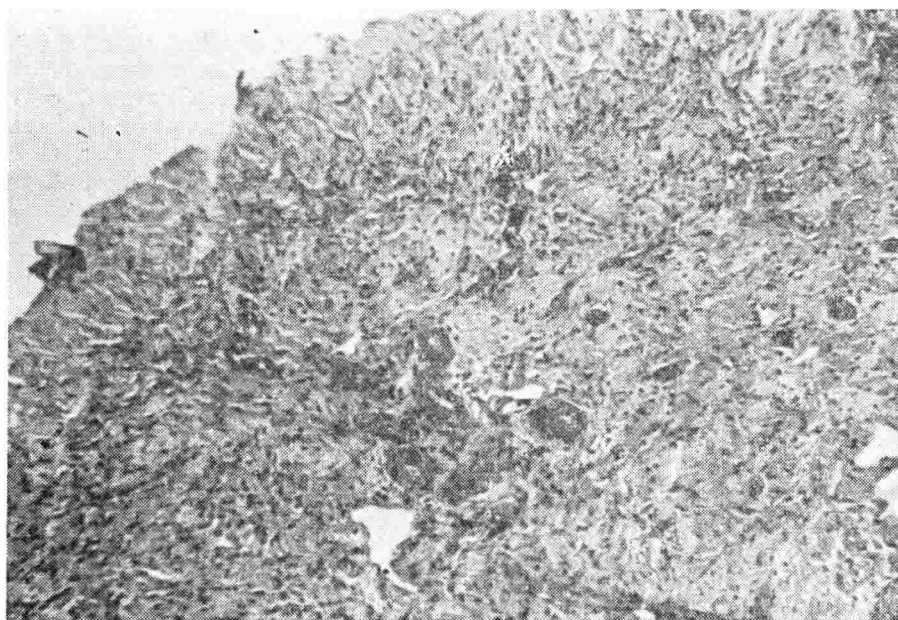


Figura 6

Corte histológico de la gonada encontrada en la laparotomía de R. G. Obsérvese la ausencia de folículos y el predominio de tejido fibroso.



Figuras 7 y 8

*Otros aspectos de la gonada anterior.*

En conclusión y a pesar de la gran cantidad de estudios citogenéticos no se puede aún establecer una relación satisfactoria entre los hallazgos clínicos y los cromosómi-

cos. Esto puede deberse a la imposibilidad de excluir un mosaicismo o, si el mosaicismo está presente, decidir su extensión y distribución precisa dado que algunas veces es

posible encontrar cariotipos diferentes en cultivos de un mismo tejido (por ejemplo piel, como en el informe de London et al⁴⁷).

Puede ser aconsejable practicar estudio cromosómico completo en pacientes que fallan en desarrollar signos de pubertad, dado el hallazgo de cariotipos XO en pacientes con corta estatura e infantilismo sexual pero sin ningún otro signo de síndrome de Turner⁴⁹.

En los casos de pacientes con mosaicos es importante tener en cuenta, sobre todo desde el punto de vista del consejo genético, que estas pacientes pueden ser fértiles y tienen posibilidad de tener hijos con anomalías de los cromosomas sexuales⁵⁰. Tal es el caso presentado por Vianello et al²⁹ cuyo cariotipo era

XO/XX/XXX y que tuvo tres hijos, el primero con constitución XO, el segundo con XO/XX y el tercero XO/XX/XXX.

4) Anomalías somáticas: El rasgo físico más sobresaliente, a la vez que es bastante frecuente, es el pterigium colli. En nuestra serie este signo se presentó en el 13,6% de los casos. (Ver Cuadro N° 6). Además de esto el cuello frecuentemente es corto y de base ancha. (Fig. N° 11).

La implantación del cabello en la nuca es baja. Este signo se encontró en el 50% de nuestras pacientes. (Figura N° 12). Los pabellones auriculares pueden ser anormales, con adherencia del lóbulo inferior al cuello a la vez que su implantación es baja y posterior (Figura N° 11). Puede existir hipoplasia del maxilar inferior, lo mismo que paladar ojival.



Figura 9

Paciente B. G. Síndrome de Turner. Cariotipo XO. Obsérvese el gran número de nevus pigmentarios, la ligera ptosis palpebral y la alopecia parcial de las cejas.



Figura 10

Paciente F. P. N° 18. Síndrome de Turner. Cariotipo XO. Obsérvese el cuello corto, el pterigium colli y la separación anormal de los pezones.

En ocasiones presentan hipertelorismo ocular, epicantus interno, alopecia de las cejas, hipoplasia de los huesos de la base de la nariz, abundantes nevus pigmentarios (Figura N° 9), boca de pescado, ptosis palpebral, escleróticas azuladas con manchas hiperocrómicas. El tórax puede presentar forma de escudo, los pezones se encuentran anormalmente separados y pueden en ocasiones estar invertidos.

Las uñas tanto de las manos como de los pies son hipoplásicas⁵¹, puede haber disminución del volumen de la eminencia tenar e hipotenar, a la vez que clinodactilia del quinto dedo en pies y manos.

Son bastante frecuentes el cubitus valgus y el genu valgum en el

síndrome de Turner. Puede existir linfedema congénito de extremidades, cutis laxa, mayor tendencia a la formación de queloides y sangrado digestivo debido a la presencia de telangiectasias. Sobre las anomalías óseas trataremos al hablar de los hallazgos radiológicos.

Estas pacientes pueden presentar hipertensión arterial sin causa anatómica que la explique^{56 57} (a excepción de la coartación aórtica que es frecuente y a la cual nos referiremos posteriormente). En la literatura hay informes de tres casos de ruptura de aorta (aneurisma de la aorta)^{53 54 55} y necrosis medioquística de la aorta^{54 56 55}.

En cuanto a las anomalías cardiovasculares tenemos que la coartación de la aorta con o sin defecto ventricular septal, es la lesión más frecuente^{57 58}; la segunda lesión en frecuencia es la estenosis pulmonar^{56 57}. Youker et al⁵⁶ refieren que la coartación de aorta y el linfedema congénito han sido descritos solamente en pacientes con pterigium colli. Nuestra paciente N° 10 presentó coartación de la aorta inmediatamente por debajo del sitio de implantación de un ductus arterial permeable, presentando al examen, cuello corto sin evidencia de pterigium colli. La paciente N° 12 presentó una C. I. A. y estenosis valvular pulmonar. Otras lesiones descritas⁵⁸ son la estenosis aórtica con dextrocardia, atresia aórtica, insuficiencia aórtica, arteria subclavia aberrante, defecto atrial septal, ductus arterioso persistente, transposición de los grandes vasos, dextrorrotación y dextrocardia. Recientemente Lintermans⁵⁹ informó un caso de síndrome de Turner (sin estudio cromosómico) con hipoplasia del corazón izquierdo, atresia mitral y aórtica y C. I. A. pequeña.



Figura 11

Paciente F. P. N° 18. Obsérvese el pterigium colli, la implantación baja y posterior de las orejas.

La incidencia de anomalías renales congénitas en el síndrome de Turner es muy alta⁶⁰. Las principales anomalías son: riñón en herradura o con malrotación, pelvis renal bífida, duplicación de ureteres, obstrucción ureteropélvica con dilatación de cálices, ureter retrocava. Esto hace que en el estudio de una paciente con síndrome de Turner sea imprescindible la búsqueda de patología renal.

Finalmente la incidencia de otitis media en estas pacientes es mayor que en la población normal⁶¹. El déficit auditivo por compromiso neurológico también es frecuente. Nuestra paciente N° 8, H. C., tiene como antecedentes episodios frecuentes de otitis media bilateral y a la otoscopia mostró perforación del tímpano izquierdo.

Trastornos Endocrinos en el Síndrome de Turner

Cada día hay mayor evidencia de asociación de tiroiditis de Hashimoto con síndrome de Turner⁶². Lewitus⁶³, muestra valores de P. B. I. normales en el síndrome de Turner y un aumento en la toma del I radioactivo sin que haya signos de hipertiroidismo. Engel et al⁶⁴, Grumbach et al⁶⁵ y Williams et al⁶⁶ demostraron una alta incidencia de tiroiditis de Hashimoto y mixedema primario en pacientes con síndrome de Turner y sus familiares, a la vez que una alta incidencia de anticuerpos antitiroides. Estos hallazgos hacen pensar en una mayor propensión a las enfermedades autoinmunes en presencia de defectos cromosómicos del X, o la posibilidad de que la presencia de autoinmunidad en los

padres de las pacientes, dé lugar a las anomalías cromosómicas. Debido a la asociación de tiroiditis específicamente con pacientes portadores de un isocromosoma X, se sugirió una relación estrecha entre la presencia de isocromosoma y la tiroiditis⁶².

Igualmente se ha observado una alta incidencia de diabetes mellitus en estas pacientes y en sus familiares más cercanos.

Los niveles de gonadotropinas son generalmente bastante altos (Cuadro N° 7). Sin embargo, Grossman⁶⁵, y Pitis et al⁶⁶ muestran que los niveles de las gonadotropinas urina-rias varían considerablemente de un espécimen a otro en la misma pa-

ciente y que las mediciones durante un lapso de tiempo muestran ascensos y descensos, lo cual podría explicar el hallazgo de valores bajos de F. S. H. en pacientes con síndrome de Turner. Debido a esto el clínico no debe inferir que la gonadotropina esté baja en base a un solo test.

La secreción de hormonas suprarrenales es normal en estos pacientes lo mismo que la respuesta a la A. C. T. H.⁶⁷. Sin embargo, Sobrinho et al⁶⁸, encontraron en tres pacientes valores muy bajos de excreción de pregnenetriol y bajas concentraciones de estradiol en sangre. El tratamiento estrogénico en estas pacientes demostró que el estrógeno exógeno puede inducir un bloqueo



Figura 12

Paciente R. G. Cariotipo X0. Obsérvese la implantación baja del cabello y el pterigium colli (y la adherencia del lóbulo inferior del pabellón auricular junto con su implantación baja).

CUADRO N° 1

CASO N°	PACIENTE	EDAD CRONOL. (AÑOS)	TALLA (cms.)	CARIOTIPO
1	N. R.	17	132	XO
2	E. M.	17,10/12	128	XX/XO
3	C. R.	5,6/12	98	XX/XO
4	T. F.	22	130	XO
5	A. R.	14 días	45	XX/XO
6	L. R.	17,3/12	120	XO
7	R. G.	19,6/12	144	XO
8	H. C.	13,7/12	102	XO
9	E. S.	23	130	XO/XX
10	C. P.	5,7/12	98	XO
11	D. R.	1,2/12	80	XO
12	H. G.	16,9/12	127	XO
13	V. L.	7,2/12	100	XX/XO
14	C. A.	20 días	45	XO
15	M. P.	17,5/12	134	XO/XY
16	A. V.	21	131	XO
17	E. P.	13,6/12	110	XO
18	F. P.	10,9/12	110	XO
19	B. G.	18,5/12	136	XO
20	M. A.	17,2/12	135	XX/XO/XXX
21	M. M.	16	124	XX/XO/XXX
22	A. V.	10,9/12	109	XX/XXr*

* r = anillo pequeño

CUADRO N° 2

CASO N°	PACIENTE	EDAD DE LA MADRE AL NACER (AÑOS)	ORDEN DE NACIMIENTO	EDAD AL HACER EL DIAGNOSTICO (AÑOS)			
1	N. R.	21	3	17	G12	P11	A2
2	C. M.	15	3	14	G8	P7	A1
3	C. R.	35	4	5,6/12	G7	P5	A3
4	T. F.	40	7	22	G7	P7	A0
5	A. R.	—	—	14 días	G4	P4	A0
6	L. R.	—	1	13	G3	P3	A0
7	R. G.	30	3	15	G4	P4	A0
8	A. C.	23	4	11	G9	P7	A2
9	E. S.	35	3	23	G3	P3	A0
10	C. P.	34	3	2	G4	P2	A2
11	D. R.	23	2	1 día	G2	P2	A0
13	V. L.	31	3	3	G3	P3	A0
14	G. O.	37	9	20 días	G9	P9	A0
15	M. P.	22	1	14	G3	P3	A0
16	A. V.	—	1	19	G5	P5	A0
17	E. P.	27	11	12	G12	P12	A0
18	F. P.	22	2	6,6/12	G4	P4	A0
19	B. G.	45	7	14	G8	P8	A0
20	M. A.	39	4	16	G5	P5	A0
21	M. M.	34	3	16	G6	P6	A0
22	A. V.	31	2	10	G6	P4	A2



Figura 13

Paciente D. R. N° 11. Cariotipo XO (recién nacida). Obsérvese la separación anormal de los pezones y el linfedema dorsal de pies.

relativo en la 3β -OH-esteroid-dehidrogenasa de la suprarrenal. Lipsett¹⁰ en su estudio concluye que la biosíntesis de andrógenos de origen suprarrenal está disminuída en pacientes con síndrome de Turner, lo que podría ser otro de los múltiples defectos asociados con esta anomalía cromosómica.

Síndrome de Turner en el Recién Nacido

Los recién nacidos vivos con constitución cromosómica XO son siempre de fenotipo femenino^{70,71}. Al examen físico se encuentra: pliegues epicanáticos, hipertelorismo ocular, hipoplasia ungüical de pies y manos, separación anormal de los pezones, paladar ojival, implantación baja del cabello, pabellones auriculares anormales en su forma y de implantación baja y posterior. En ocasiones

es posible diagnosticar al nacimiento la coartación aórtica.

El hallazgo de piel redundante en la nuca (Ver Figura N° 16) es frecuente en los recién nacidos con síndrome de Turner; sin embargo, no es patognomónico de esta entidad⁷². Puede encontrarse también en recién nacidos con síndrome cerebro-hepatorrenal, con trisomía 18 y 22 mongolismo por traslocación. En general, el hallazgo de este signo en el recién nacido, debe alertar al pediatra de una posible aberración cromosómica.

Entre el hallazgo de piel redundante en la nuca y los hallazgos de Singh et al¹⁹ en embriones con constitución cromosómica XO, se puede establecer una relación. Estos autores describen en sus embriones la presencia de una formación especial en la nuca (un higroma quísti-

co), lesión que se podría considerar como precursora de las lesiones de cuello (piel redundante e implantación baja del cabello) y la implantación anormal de las orejas.

La descripción de dos pacientes " " con una sola arteria umbilical (en vez de dos que es lo normal) y síndrome de Turner hace posible que exista alguna relación. Por tanto, el examen cuidadoso del muñón umbilical podría ayudar en el diagnóstico de síndrome de Turner en el recién nacido.

Otro hallazgo frecuente en el recién nacido con este síndrome es el linfedema dorsal bilateral en manos y pies (Figura N° 15). Este linfedema desaparece espontáneamente, en términos generales al año del na-

cimiento. Nuestra paciente N° 12, H. G., con cariotipo XO presenta linfedema en pierna derecha desde el nacimiento; en la actualidad tiene 16 años. Este caso es similar a los dos casos descritos por D'Oelsnitz et al " (uno de los cuales a la linfangiografía mostró aplasia linfática y el otro hipoplasia), con cariotipo XX/XO. Fueron Benson et al quienes en 1965 describieron la hipoplasia linfática en cinco casos de síndrome de Turner, basándose en estudios de los sistemas linfáticos por linfangiografía. Quedaría por explicar lo que acontece con la desaparición del edema en las pacientes; una posible explicación sería que, con el tiempo se desarrollan comunicaciones con el sistema linfático profundo.

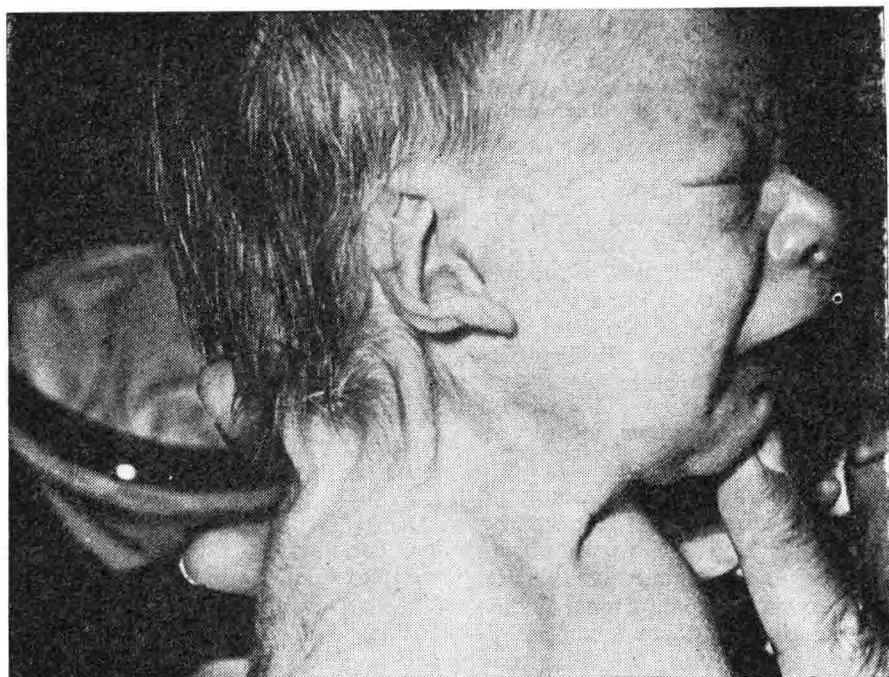


Figura 14

Paciente D. R. N° 11. Cariotipo XO. Obsérvese el pterigium colli, la implantación baja y posterior del pabellón auricular, la implantación baja del cabello y la redundancia de piel en la nuca.

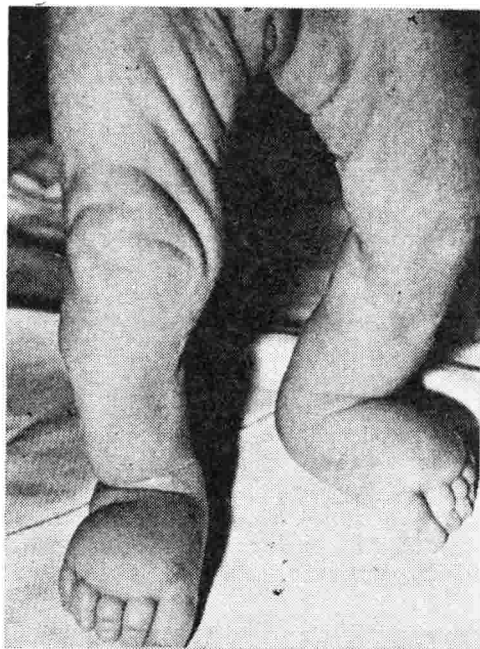


Figura 15

Paciente R. D. N° 11. Cariotipo XO. Obsérvese el linfedema dorsal bilateral, en ambos pies.



Figura 16

Paciente D. R. N° 11. Cariotipo XO. Obsérvese la implantación baja del cabello y la piel redundante en la nuca.

Existen técnicas quirúrgicas para el tratamiento del edema persistente⁷⁵, practicando una ablación de los linfáticos superficiales. Se aconseja como edad ideal para la intervención, 18 a 19 años. La evolución crónica del linfedema puede justificar intentos quirúrgicos.

Hallazgos Oftalmológicos en el Síndrome de Turner

Las descripciones de patología ocular son escasas y en general ha sido muy amplia su variedad sin que hasta ahora exista una lesión definida para este síndrome. Existe el informe de dos casos⁷⁶ con retinitis pigmentaria (uno de ellos con constitución XX/XO, tenía una retinitis pigmentaria severa, con opacidad congénita del cristalino y una hiperostosis del hueso frontal). Hay

informes de glaucoma congénito y síndrome de Turner⁷⁷. Blervacque et al⁷⁸ anotan la existencia de una anomalía congénita en el ángulo iridocorneal acompañado de hipertonía ocular bilateral. Algan et al⁷⁹ informan un caso de síndrome de Turner y constitución XXX/XO con sintomatología de déficit fascicular óptico central y periférico unilateral, aparentemente primario.

A siete de nuestros pacientes se les practicó examen oftalmológico completo (Véanse Cuadros N° 3 y N° 3-a). El hallazgo más frecuente consistió en trastornos de la motilidad ocular, presente en cinco de siete pacientes estudiadas. Sin embargo, Thomas et al⁸⁰ informan 30 casos estudiados por ellos concluyendo que no hay un signo o sín-

toma oftalmológico característico del síndrome de Turner. Estos trastornos de la motilidad ocular descritos en nuestras pacientes pueden ser la manifestación de un trastorno neurológico o de la fibra muscular en sí. Si esta anomalía muscular existe no sabemos si se trate de una lesión localizada o sea más bien generalizada. Se proyecta practicar estudios electromiográficos en nuestras pacientes los cuales ayudarán a determinar o no lesiones musculares en el síndrome de Turner.

La incidencia de ceguera para el rojo y el verde es mayor en estas pacientes que en mujeres normales, debido a la falta de un cromosoma X o parte de él. En todas nuestras pacientes el test de Ishihara fue normal.

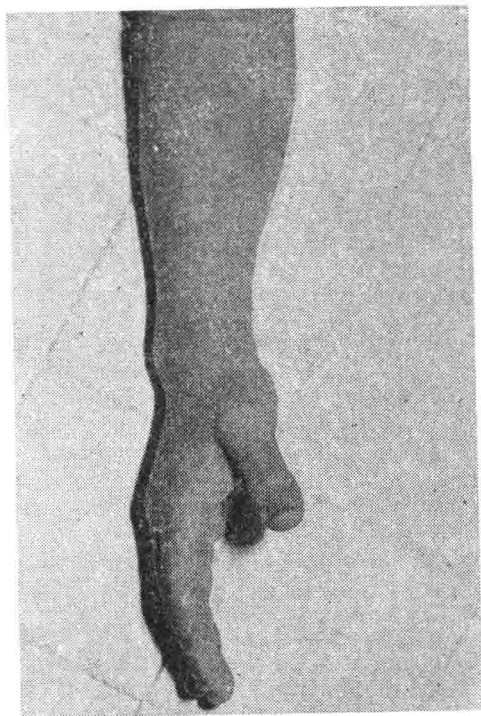


Figura 17

Paciente N° 7 R. G., Mano derecha. Obsérvese la deformidad de Madelung.

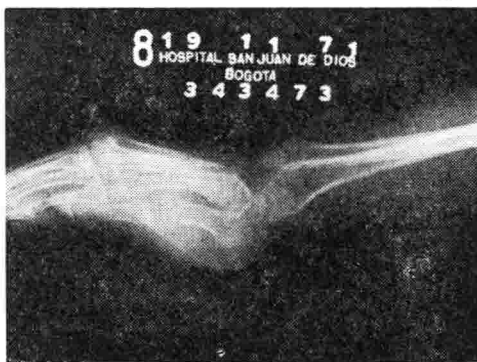


Figura 18

Aspecto radiológico de la misma.

El hallazgo de ceguera para los colores es importante como un marcador para determinar si el cromosoma X faltante es paterno o materno. En ese mismo orden es importante estudiar el locus genético Xg^a , gene dominante ligado al cromosoma X. Franceschetti⁸¹ recomienda que en caso de una mujer con ceguera para el rojo y el verde, es importante hacer un test de cromatina sexual o un cariotipo.

Trastornos Psiquiátricos en el Síndrome de Turner

Mientras que las descripciones clínicas y citogenéticas son abundantes, no existe hasta ahora un estudio concluyente de algún tipo de trastorno mental, en el síndrome de Turner.

Aun cuando existen algunos informes de deficiencia mental y síndrome de Turner^{82 83 84 85} (valorados por tests para coeficiente intelectual), esto no es lo corriente^{86 87}. Al parecer esta debilidad mental moderada puede corresponder a un coeficiente intelectual más o menos normal pero que aparentemente es más bajo debido a inmadurez afectiva, acompañada de ansiedad e inhibición, lo cual da la falsa impresión de una

debilidad mental más severa de lo que realmente es⁸⁴.

Estos trastornos de personalidad se explicarían como producidos por: 1. Su inferioridad física (corta estatura, rasgos faciales) junto a las demás hermanas o compañeras de juego. 2. El infantilismo sexual. 3. La actitud de la familia ante la paciente (sobrepotección, ambivalencia al ser considerada como una carga o una desgracia, sentimientos de culpa de los padres). Un problema similar ocurre en las relaciones sociales de la paciente.

Estas pacientes casi siempre asumen papeles femeninos; algún contraste al señalamiento anterior puede encontrarse en el síndrome de Klinefelter, en donde se han descrito casos de tendencias homosexuales⁸⁵.

En la literatura hay informes de un caso de sociopatía con síndrome de Turner⁸⁶ y uno de esquizofrenia⁸⁷.

Los estudios de Alexander et al⁸⁸ muestran un déficit neurocognoscitivo en la percepción de la forma y el espacio. Este déficit puede ser concebido como una disgnosia de desarrollo relativo a la orientación de las formas en el espacio. Este hallazgo se considera actualmente como un defecto más en el síndrome de Turner que afecta a algunas pacientes pero no a todas.

Los casos de síndrome de Turner que muestran trazas anormales de EEG son numerosos⁸⁹. Los tres casos de Christodorescu⁸⁴ junto a algunos signos neurológicos como estrabismo, síndrome cerebeloso, miopatías, nistagmus, convulsiones, están en favor de la hipótesis de este autor de que en el síndrome de Turner hay un daño cerebral determinado por la anomalía cromosómica, que hasta ahora no se ha demostrado plenamente.

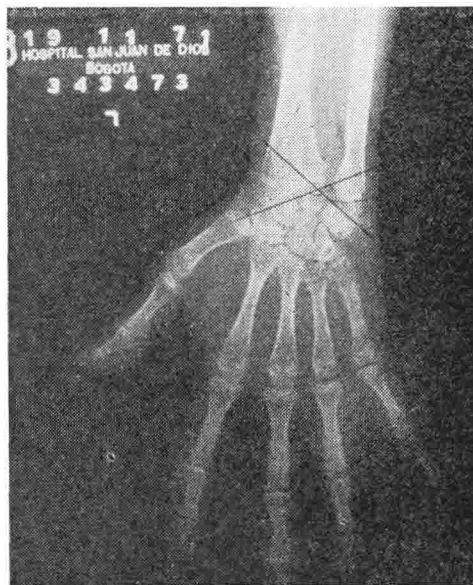


Figura 19
Paciente N° 7 R. G. Aspecto radiológico de la mano izquierda. Obsérvese la desmineralización y el ángulo carpiano de 117 grados.

Hallazgos Radiológicos

Los hallazgos radiológicos en el síndrome de Turner se caracterizan en líneas generales por la alta incidencia de displasia epifisiaria y anomalías óseas.

La maduración esquelética en casi todas estas pacientes es retardada y la desviación de lo normal se acepta a medida que la paciente avanza en edad. Esto ha sido relacionado con la deficiencia estrogénica. Las pacientes jóvenes no muestran retardo en la maduración esquelética y el hallazgo se hace más prominente por encima de los 14 años.

En todas las pacientes estudiadas por nosotros se encontró una edad ósea menor que la cronológica (Véase Cuadro N° 4).

Los estudios radiológicos revelan desmineralización ósea. Más que una

osteoporosis se puede tratar de un defecto de tejido conectivo del hueso en forma concomitante a las otras lesiones descritas en todo el tejido conectivo y la evidencia de lesiones como escoliosis y espina bífida oculta. El hallazgo de escleras azules en pacientes con síndrome de Turner lo hace relacionar con la osteogénesis imperfecta. La evidencia radiológica de desmineralización en pacientes muy jóvenes y la poca respuesta de esta al tratamiento estrogénico hacen pensar que su origen sea diferente al hormonal. La desmineralización fue un signo presente en todas las pacientes estudiadas (Véase Cuadro N° 4).

Las radiografías de puño y mano son especialmente útiles ya que permiten ver la desmineralización, ha-

cer el cálculo de la edad ósea, la fusión retardada de los centros epifisarios y otros signos como los siguientes:

1) El llamado signo del ángulo carpal dado por una forma anormal de la primera fila de los huesos del carpo. El ángulo carpal está dado por una línea tangente que una el escafoide con el semilunar y otra tangente que cruce la anterior y una al semilunar con el piramidal; este ángulo normalmente debe medir 131 grados. En el síndrome de Turner su valor es menor (Figura N° 19). Este signo es diez veces más frecuente en el síndrome de Turner que en la población normal. Solo dos pacientes de nuestra serie mostraron un ángulo carpal menor de lo normal (Véase Cuadro N° 4).



Figura 20

Aspecto radiológico de las rodillas en la paciente N° 18 F. P. Obsérvese la hipertrofia bilateral del cóndilo femoral interno y el aplanamiento del platillo tibial correspondiente.

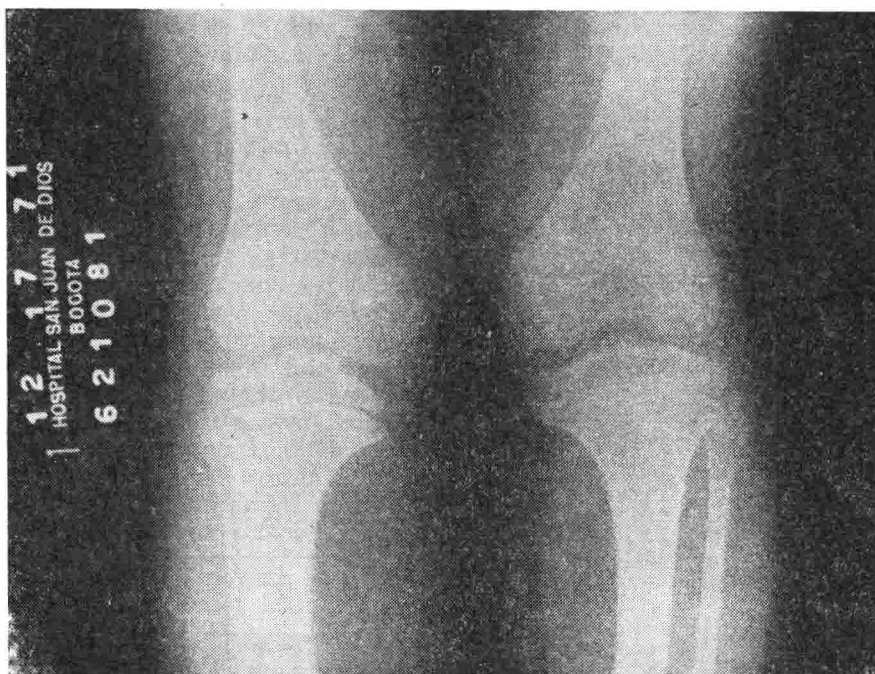


Figura 21

Aspecto radiológico de las rodillas en la paciente N° 22 A. V. Obsérvese el aplamiento de los platillos tibiales y la hipertrofia bilateral del cóndilo femoral interno.

2) El signo del metacarpio positivo: es producido porque en estas pacientes la longitud del cuarto metacarpio es menor de lo normal, así que al trazar una línea que una el punto más distal del cuarto y quinto metacarpiano y se prolongue, esta línea cortará el tercer metacarpiano en lugar de pasar distalmente al mismo, como es lo normal. La paciente N° 22 de nuestra serie fue la única que presentó este signo.

3) El signo de la preponderancia falángica, el cual consiste en que la suma de la longitud de la segunda y tercera falanges del cuarto dedo es mucho mayor que la longitud del cuarto metacarpiano (normalmente esta suma debe ser igual a la longitud del cuarto metacarpiano + 3 mm.). Tres pacientes en nuestro es-

tudio mostraron este signo positivo. Fuera de estos tres signos anotados en los puños, existen otros signos tales como: 1. Los centros de osificación se deforman y se encuentra osificación accesoria y exostosis ósea a nivel de las partes distales de los huesos. 2. En la columna vertebral se pueden encontrar cambios como escoliosis, xifosis, espina bífida, fragmentación de los platillos epifisarios en los cuerpos vertebrales, lo que se describe como epifisitis o condrodistrofia. 3. Anormalidades del esternón tales como fusión de todos los segmentos. 4. El cóndilo medial del fémur es mucho más bajo que el cóndilo lateral, con aplastamiento consiguiente del platillo tibial interno (Figura N° 20). 5. Pueden existir cambios a nivel del cóndilo tibial medial bilateral, simétrico, que

aumentan a medida que avanza la edad, produciendo una deformidad en varo¹¹. 6. Cubitus valgus: radiológicamente se encuentra una inclinación radial de la superficie articular de la tróclea. En algunos casos, los huesos del antebrazo tienden a tomar una curva hacia el lado cubital, lo cual compensa el valgus¹². 7. Un hecho interesante es el desarrollo patológico de las clavículas, caracterizado por adelgazamiento en su parte lateral; al mismo tiempo, hay anomalías en el contorno de las costillas, caracterizadas por calibre irregular y adelgazamiento de la porción dorsal de las mismas. Estos cambios pueden causar confusión con los presentados en la coartación aórtica¹³. 8. La silla turca no presenta un cambio definido, pues los diferentes informes la describen como pequeña o normal. En ocasiones, pueden existir calcificaciones interclinoideas. 9. Se ha informado además necrosis aséptica del cóndilo tibial medial. 10. Puede presentarse hipoplasia de la primera vértebra cervical¹⁴. 11. Ha sido informado un grado moderado de protrusión acetabular bilateral, sin que se haya definido una conformación típica como en el caso del mongolismo¹⁵. 12. La pelvis puede tener características masculinas e hipoplasia de las alas del sacro. 13. Los cambios en los pies son similares a los descritos en las manos. 14. La deformidad de Madelung ha sido descrita en este síndrome. Esta deformidad consiste en la dislocación no traumática¹⁶ del cúbito y se produce porque el crecimiento del radio se detiene y el cúbito crece en mayor longitud que el radio, de tal manera que el cúbito se extiende no solo distalmente sino también hacia la parte dorsal del radio. Se produce así una prominencia dorsal de la apófisis estiloides del cúbito, a la vez que el radio puede mostrar un

arqueamiento en dirección dorsolateral (Figura N° 17 y N° 18). Radiológicamente hay una inclinación de las superficies articulares del radio hacia el cúbito, con una aparente subluxación del semilunar en dirección radial. La fila proximal de los huesos del carpo da una apariencia

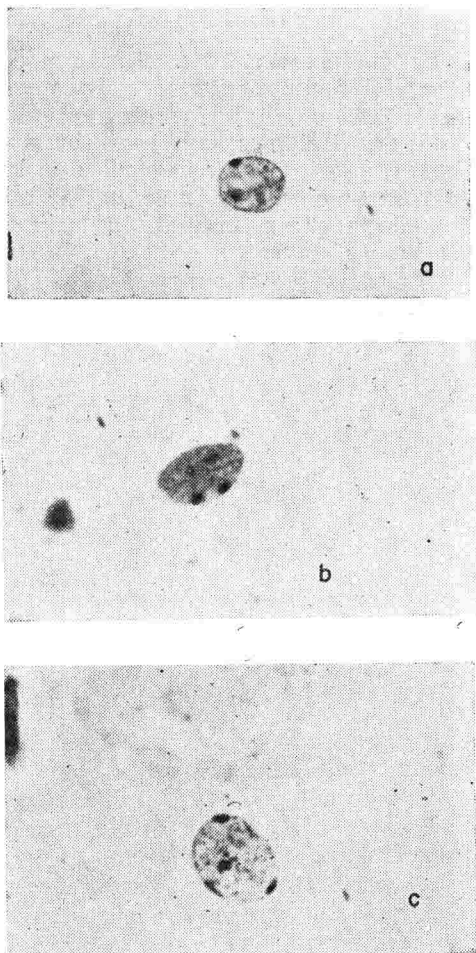


Figura 22

Microfotografías de células obtenidas de mucosa oral (Coloración Biebrich-scarlet - fast green)

Las flechas indican: en a) un cuerpo de cromatina sexual; en b) dos cuerpos de cromatina sexual y en c) tres cuerpos de cromatina sexual.

angulada en vez de una curva suave, y el hueso ganchudo y el grande están uno junto al otro y en algunas ocasiones se sobreponen⁹⁴. 15. La urografía puede mostrar los cambios ya anotados en anomalías renales. 16. La linfangiografía en los casos de linfedema puede mostrar aplasia o hipoplasia del sistema linfático.

Es de importancia anotar la utilidad del neumoperitoneo pélvico en estas pacientes y en general en todo tipo de pacientes con sexo imperfecto, dada la relativa sencillez de la técnica empleada y la seguridad en los diagnósticos, cuando la técnica es buena.

Aunque este método radiológico ha sido utilizado para calcular el tamaño de los ovarios o delimitar masas que hacen cuerpo con ellos, los resultados obtenidos no han sido muy satisfactorios, dada la diferencia encontrada entre el tamaño real y el calculado, por la distorsión producida en la incidencia de los rayos. Los estudios de McDonough et al^{95,96} han demostrado su importancia en aquellas pacientes en las cuales se trata de evidenciar la ausencia o no de los ovarios, lo cual evitaría una laparotomía exploradora.

Uso de la laparoscopia en el diagnóstico del estado gonadal de estas pacientes:

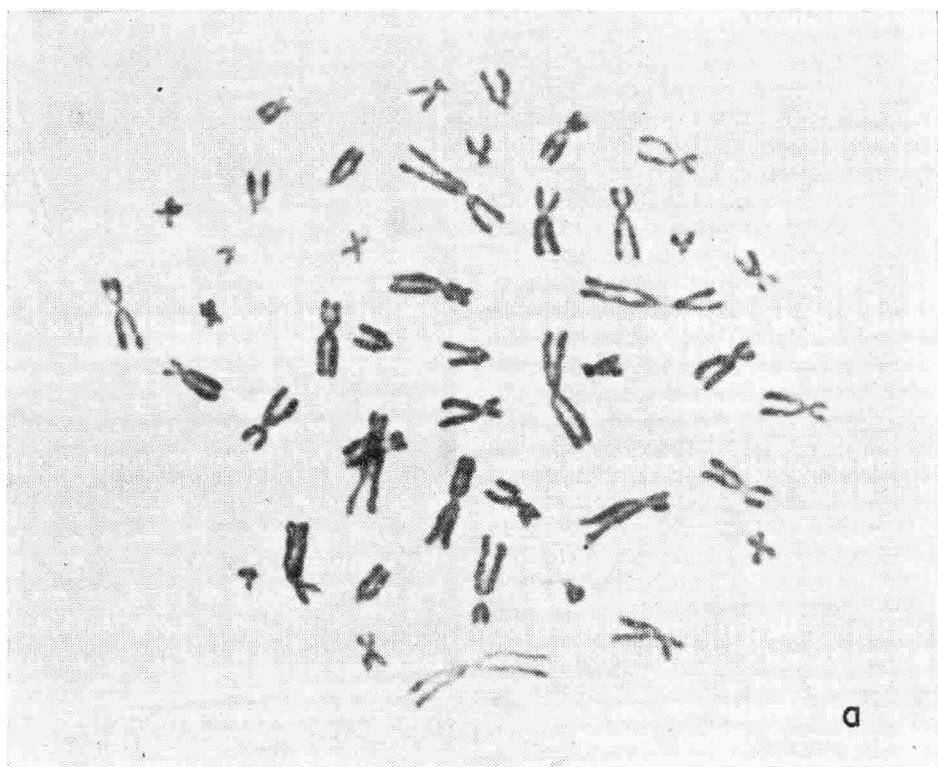
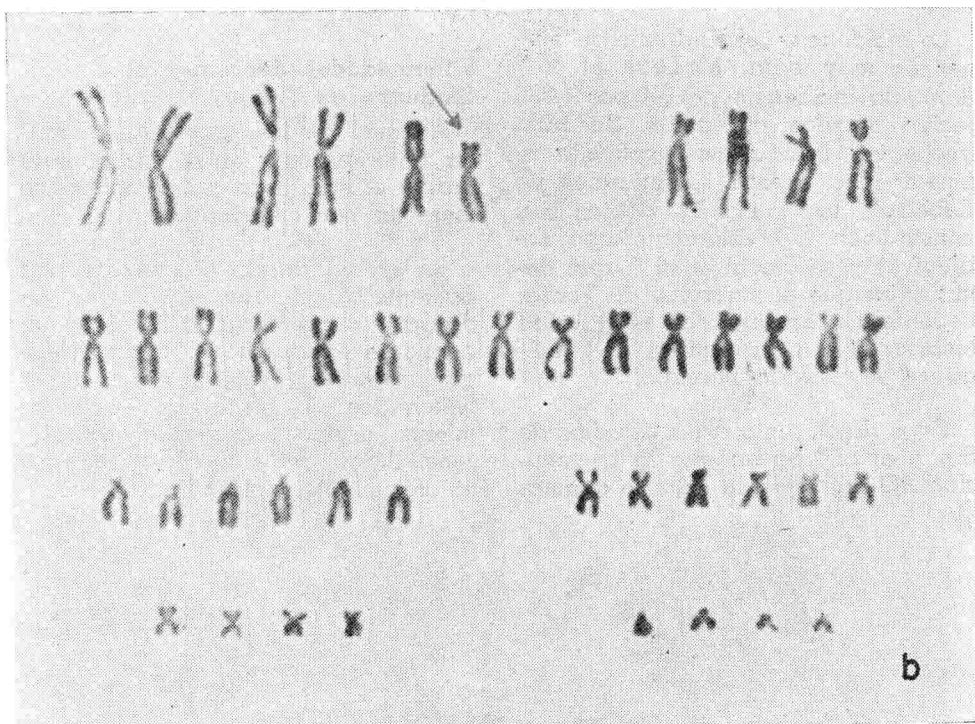


Figura 23

a) Metafase; b) Cariotipo de la paciente N° 6 L. R. las cuales muestran la ausencia de uno de los cromosomas X.



Este nuevo método de examen puede tener gran importancia en el estudio de la disgenesia gonadal, y aunque la culdoscopia continúa siendo importante en el estudio de pacientes infértiles, la laparoscopia tiene algunas ventajas sobre aquella.

Ells Worth et al.⁹⁷ creen que la laparoscopia es mejor que la culdoscopia para el estudio de problemas ginecológicos, dada la distensión abdominal que se produce artificialmente, la relativa inocuidad del procedimiento, la mayor visualización de las estructuras y la posibilidad de tomar biopsias. Esta puede ser una técnica aplicable en el estudio de pacientes con síndrome de Turner.⁹⁷

Dermatoglifos en el Síndrome de Turner

Alter⁹⁸, Forbes⁹⁹ y Holt et al.¹⁰⁰ resumen los dermatoglifos en el síndrome de Turner como caracterizados por un aumento de aros en los dedos de las manos; asas en los dedos de los pies; gancho radial en el índice; asas en ligera orientación vertical; línea simiana; ángulo atd aumentado; recuento de crestas a-b aumentado y trirradio b cambiado hacia el borde cubital. Los análisis de los dermatoglifos de las pacientes de nuestra serie no revelaron ningún dato patognomónico para esta entidad. Antes bien, los resultados fueron muy diversos.

Incidencia del Síndrome de Turner

La incidencia del síndrome de Turner es muy baja. McLean et al¹⁰¹ dan una incidencia de 0,4 por 1.000 recién nacidos femeninos. Su baja frecuencia podría ser explicada si tenemos en cuenta los informes de Roberts⁸¹, (de cada 14 zigotos con constitución XO solamente uno sobrevive) y de Hecht et al¹⁰², que demuestran que el síndrome de Turner tiene una gran letalidad en la vida embrionaria, principalmente, y luego en el período neonatal¹⁰³.

Estos datos junto a los estudios de Singh et al³⁹ hacen que la constitución XO ingrese a la lista de anoma-

lías cromosómicas causantes de abortos espontáneos.

Enfermedades Asociadas al Síndrome de Turner

Además de las anomalías descritas anteriormente, en el síndrome de Turner existen otras asociaciones que merecen ser mencionadas.

Se ha informado el caso de una paciente con síndrome de Turner que desarrolló acromegalia¹⁰⁴, por un adenoma eosinófilo de la hipófisis y que no creció, a pesar de no tener fusionados los cartílagos de crecimiento, dando a pensar en una insensibilidad del sustrato óseo para el crecimiento longitudinal.

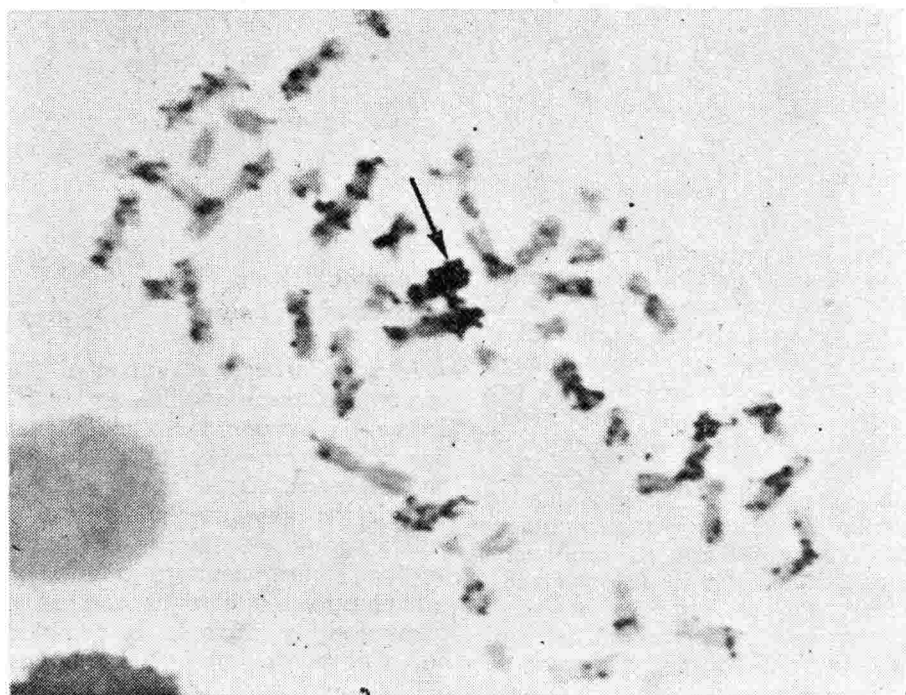
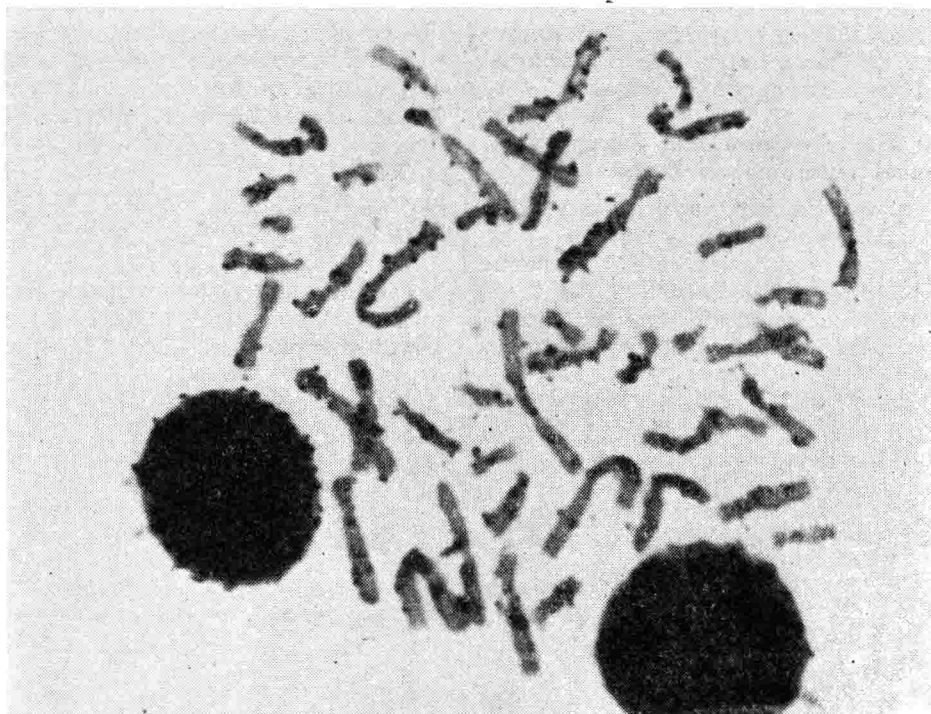


Figura 24

a. Estudio autorradiográfico de una paciente normal con cariotipo XX normal. La flecha indica el cromosoma X de replicación tardía.



b. Estudio autorradiográfico de la paciente N° 18 H. C. cuyo cariotipo es XO. Obsérvese la ausencia del cromosoma X de replicación tardía.

El síndrome de Turner se ha descrito asociado con obesidad, diabetes mellitus, aclorhidria, cataratas, opacidades corneanas¹⁰⁵, tiroiditis de Hashimoto³³, progeria¹⁰⁵, duplicación gástrica y riñón multiquístico¹⁰⁶.

Hay un informe de asociación de un paciente de síndrome de Turner y trisomía G que al estudio cromosómico reveló ser un mosaico 45,XO/46X G?+ (incluyendo un fragmento cromosómico céntrico)¹⁰⁷, e informes de pseudohipoparatiroidismo con disgenesia ovárica^{108 109}, lamentablemente sin estudios cariológicos, ni investigación con hormona paratiroidea de la función del túbulo renal.

Aun cuando no existen muchos informes de desarrollo de malignidad en gonadas de pacientes con síndrome de Turner (cariotipo XO)^{110-111 112}, Domínguez et al¹¹³ informaron un caso de disgerminoma de ovario en una paciente. Es un hecho conocido la potencialidad maligna de las gonadas en pacientes que presentan mosaico XO/XY.

Este sería entonces el único caso, si se considera a dicha situación dentro del síndrome de Turner, que merecería una resección de las gonadas, preventiva al desarrollo de neoplasias. En los otros casos de síndrome de Turner no se ha demostrado utilidad de la resección gonadal preventiva.

La paciente N° 5 de nuestra serie presentó una asociación con síndrome de Pierre Robin y la paciente N° 14 asociación con focomiela.

El Test de Cromatina Sexual en el Síndrome de Turner

El test de cromatina ha demostrado ser especialmente útil en el estudio de las pacientes con sospecha de síndrome de Turner, teniendo en cuenta la regla de que el número de masas de cromatina sexual es

uno menos que el número de cromosomas X presentes. Esta ley¹¹⁴ tiene su fundamentación en el hecho de que uno de los dos cromosomas X, de comportamiento heterocromático y tiempo de replicación tardío en los estudios autorradiográficos, es el responsable de la aparición del cuerpo de cromatina sexual^{115 116-117 118}.

Así una mujer normal presentará una masa con las características de forma y tamaño conocidas* y una

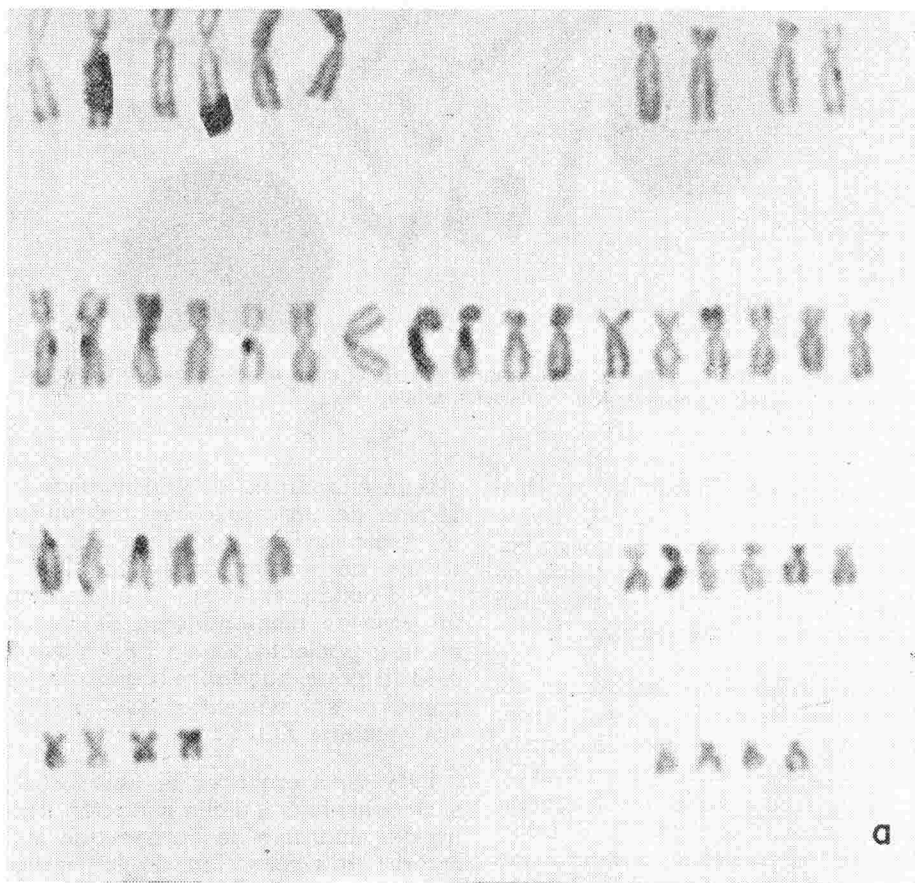
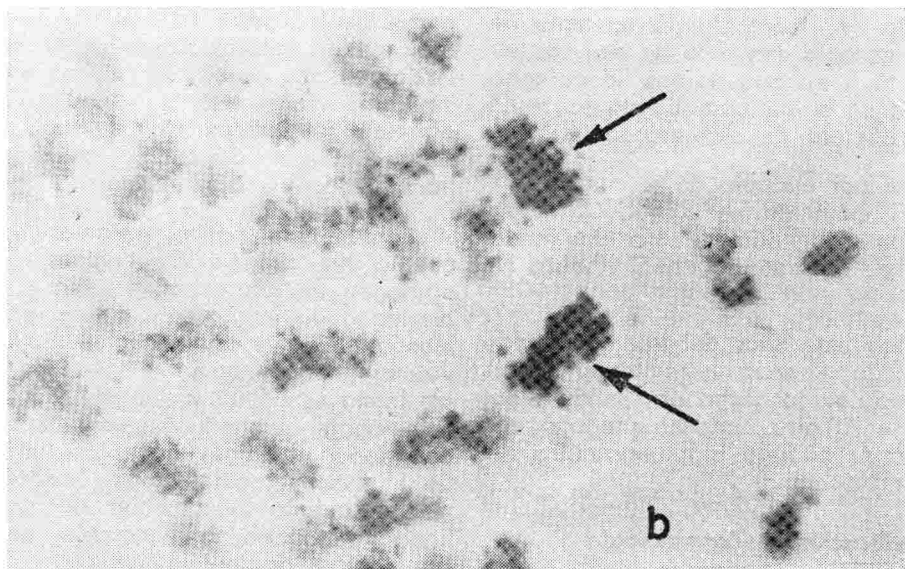


Figura 25

a. Cariotipo correspondiente a la paciente N° 20 M. A. que muestra tres cromosomas X;

* El cuerpo de cromatina tiene, normalmente, una forma planoconvexa o triangular, está colocada contra la membrana nuclear y mide $0.7\mu \times 1.2\mu$



b. Detalle de metafase tratada con la técnica autorradiográfica. Las flechas indican dos cromosomas X de replicación tardía. Para más explicaciones véase el texto.

mujer con síndrome de Turner y cariotipo XO, no presentará dicha masa (Véase Figura N° 22). El hombre normal, que posee un solo cromosoma X no revela cuerpo de cromatina sexual en los núcleos de sus células.

Igualmente, en todos los casos en que se presenta patología de los cromosomas X, siempre la muestran correspondiendo al cromosoma X heterocromático. Así, cuando hay aumento de número de dicho cromosoma, el o los cromosomas en exceso son igualmente de naturaleza heterocromática. Corroborando lo anterior, en los casos de trisomía X se encuentran dos cuerpos de cromatina sexual (Véase Figura N° 22).

El método empleado por nosotros consiste en obtener frotis de mucosa oral en la forma usual, coloreados luego con la coloración Biebrich-scarlet-Fast-green. Esta coloración se presenta como la más útil, la más

selectiva y precisa para colorear cuerpo de cromatina sexual^{119 120 121}.

Para la interpretación de este test de cromatina se deben tener en cuenta las variaciones de tamaño y número del cuerpo de cromatina de acuerdo con las anomalías del cromosoma X.

Así, una paciente con síndrome de Turner que es portadora de un isocromosoma de brazos largos del cromosoma X tendrá un cuerpo de cromatina más grande que lo normal; a la inversa, otra paciente con una pérdida considerable de sustancia cromosómica del cromosoma X tendrá un cuerpo de cromatina de menor tamaño que lo normal.

En los casos de mosaicismo en el síndrome de Turner, es también muy útil el test de cromatina sexual, pues la discrepancia entre el resultado del test y el cariotipo debe hacer sospechar un mosaico no detectado

hasta ese momento. Si se trata de un mosaico con más de dos cromosomas X en una de sus líneas celulares se sigue cumpliendo la regla del número de cromosomas X-1.

Así por ejemplo en el caso N° 21 cuyo cariotipo es XO/XX/XXX, se encontrarán núcleos con dos cuerpos de cromatina sexual (Figura N° 22).

Todo esto hace del test de cromatina un examen especialmente útil cuando se sospecha un síndrome de Turner u otra entidad que comprometa el número o la estructura de los cromosomas X.

Clasificación y Terminología

Como anotamos anteriormente, las variaciones tanto clínicas como de laboratorio y la gran variedad de hallazgos cromosómicos, explican la confusión en cuanto a la clasificación de este tipo de pacientes. A su vez, la nomenclatura del síndrome varía ampliamente en la literatura, encontrándose, entre otras denominaciones, las siguientes: "disgenesia gonadal", "agenesia gonadal", "síndrome de Turner en un hombre", "pacientes con cariotipo normal y fenotipo de Turner", "síndrome de Ullrich", "síndrome de Noonan", "síndrome de Turner".

Si tenemos en cuenta solamente los hallazgos anatomopatológicos, encontramos que, los "ovarios fibrosos" (y por consiguiente el infantilismo sexual) se puede encontrar: a) En pacientes con todos los signos clínicos y de laboratorio que describiremos posteriormente, b) En pacientes con no todos los signos clínicos, y c) En pacientes fenotípicamente normales (con excepción del infantilismo sexual). Puede suceder al contrario: a) Pacientes con una gran cantidad de signos clínicos conside-

rados dentro del síndrome de Turner y con ovarios normales, y b) Pacientes con los signos clínicos del síndrome de Turner con genitales externos masculinos cuyas gonadas pueden variar desde la anorquia hasta testículos casi normales.

Si, por otra parte, tomamos en cuenta los análisis cariológicos, la variación de anomalías, ya sea numérica o de estructura, en los cromosomas X, es muy amplia. Estas variaciones van desde el XO universal hasta el XX normal o del XO al XY normal, pasando por una gran cantidad de matices en las pérdidas de sustancia cromosómica (sin tener en cuenta las posibles anomalías estructurales no detectables por las técnicas corrientes).

Sohval⁴⁵ diferencia tres estados: 1) Pacientes con "disgenesia gonadal pura", las cuales tienen gonadas fibrosas pero ningún signo clínico de Turner, y antes por el contrario un hábito eunucoide; 2) Pacientes con síndrome de Turner los cuales tienen signos clínicos tales como corta estatura, amenorrea primaria, cuello corto, etc., y ovarios fibrosos, y 3) Pacientes con fenotipo de Turner pero con ovarios normales a los cuales clasifica como "síndrome de Ullrich". Es posible que los tres anotados sean realmente tres entidades diferentes con algunas características similares. El hallazgo de pacientes con signos clínicos de Turner pero con los dos cromosomas X⁴² complica aún más la delineación de este cuadro clínico. Es posible que estas pacientes sí tengan pérdida de sustancia cromosómica que no es detectable por las técnicas actuales. Existen clasificaciones muy complicadas como la de Polani⁴¹.

Jones, Turner y Fergusson-Smith¹²³ proponen que solo se considere como síndrome de Turner a aquellas

pacientes con infantilismo sexual debido a la presencia de gonadas aplásicas y el hallazgo de corta estatura, sin tener en cuenta que tengan o no las otras anomalías físicas. Aquellas pacientes con desarrollo femenino normal, masculino normal o intermedio con signos clínicos de Turner, principalmente la corta estatura, los clasifican como "Fenotipo de Turner" agregando algo sobre el desarrollo sexual, así por ejemplo, "Fenotipo de Turner con función ovárica normal", "Fenotipo de Turner en un hombre". En esta forma el "fenotipo de Turner con aplasia de gonadas" sería un verdadero síndrome de Turner.

Con todo esto, sin embargo, nos parece que esta clasificación es un tanto incompleta en el sentido de que no toma en cuenta el análisis citológico de la paciente en cuestión. Esto daría lugar a que en un momento no pudiéramos diferenciar si una paciente con fenotipo de Turner y desarrollo ovárico normal, tiene un cariotipo normal, o es un mosaico o, más rara aún, una paciente con cariotipo XO como el caso de Bahner", situación que presenta desarrollo ovárico normal. El problema de dicha clasificación está en que los casos están determinados solo por sus características externas.

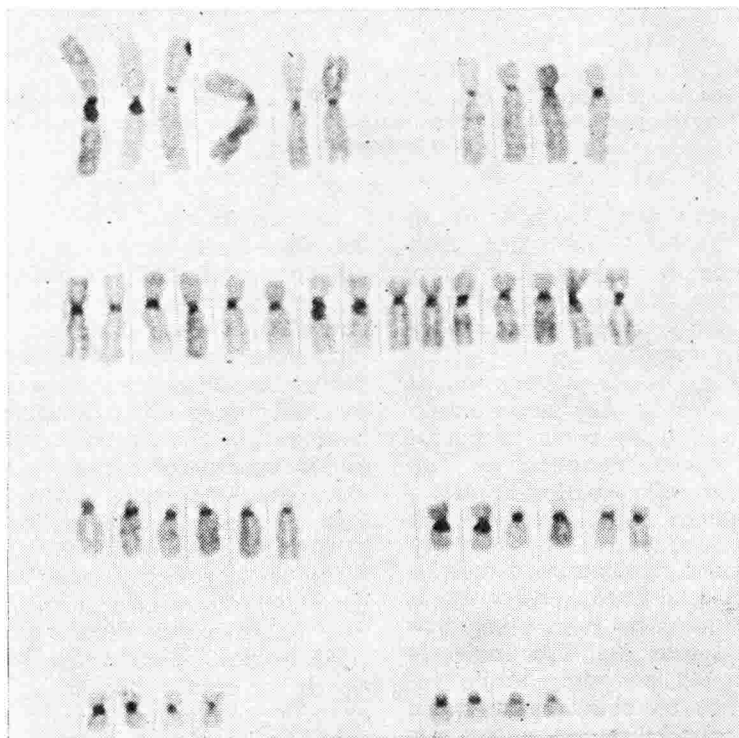


Figura 26

Cariotipo de una célula XO, tratada con el método para localizar heterocromatina in situ. Para más detalles véase el texto.

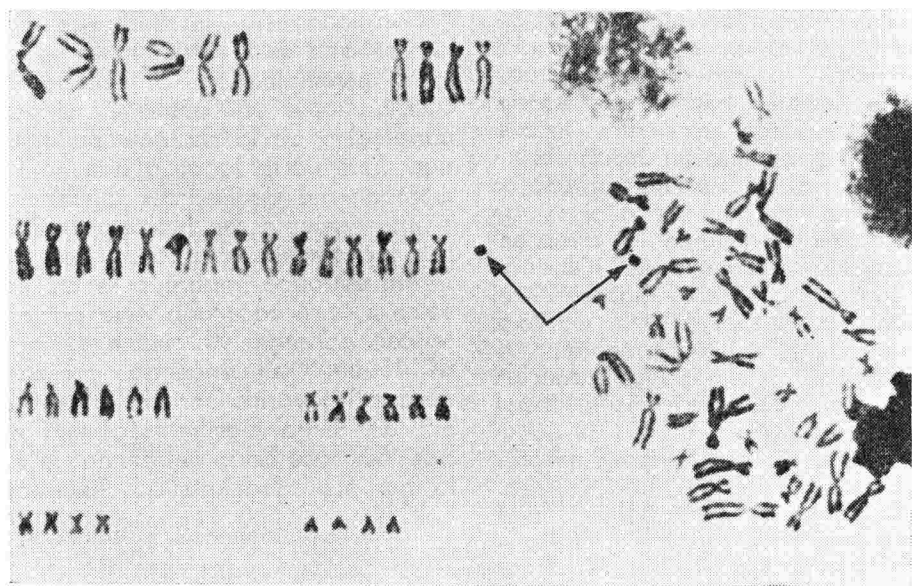


Figura 27

Metafase de cariotipo de la paciente N° 22 A. V. La flecha indica a un anillo muy pequeño formado por uno de los cromosomas X. El test de cromatina en la paciente es negativo.

Creemos que sería mejor tener en cuenta el análisis cariológico, quedando así como síndrome de Turner las pacientes con aplasia ovárica, corta estatura y un cariotipo que en una u otra forma muestre pérdida de sustancia, o ausencia total de un cromosoma X. Así por ejemplo, el caso de Bahner antes citado se clasificará como "Fenotipo de Turner con desarrollo ovárico normal y cariotipo XO".

En los casos clasificados como disgenesia gonadal pura por Sohval, el análisis cariológico puede ser normal o patológico. Así, las pacientes con disgenesia gonadal, hábito eunucoide, etc., se clasificarían como digenesia gonadal pura mientras que estas mismas pacientes pero con cariotipo XO o mosaico se clasificarían como "Fenotipo normal con cariotipo XO o XX/XO etc.".

Es posible que a medida que se clarifique este punto al término de disgenesia gonadal se limite solo a la descripción patológica de los ovarios. Aun cuando la lesión gonadal sea semejante en el síndrome de Turner la disgenesia gonadal pura, puede tratarse de dos entidades diferentes (de etiología diferente) y algunas similitudes en el cuadro clínico. Respecto a la lesión gonadal vale destacar lo anotado por Yunis et al¹²⁴ de que cuando existe un folículo en la gonada no se debe hablar de "disgenesia gonadal" sino de "disgenesia ovárica" (como descripción patológica de la gonada y no de la paciente).

En 1962 Noonan y Ehmke describieron nueve pacientes con estenosis pulmonar, corta estatura, hipertelorismo, retardo mental moderado, ptosis palpebral y malformaciones

esqueléticas, a los cuales se les dio el nombre de síndrome de Noonan

125 126 127

Sin embargo Levi et al.¹⁰⁸ sostienen que este nuevo epónimo no es apropiado por tres razones: 1. Se suma un epónimo más a la inmensurable lista de epónimos en medicina. 2. No se tienen en cuenta informes anteriores de autores que reconocieron que este síndrome puede ser heredado y que afecta ambos sexos, y 3. Es mejor hablar de fenotipo de Turner acompañado de XX, XO, XY, etc.

En resumen, la tendencia actual es a considerar como síndrome de Turner solamente a aquellas pacientes con estatura corta como mínimo, disgenesia gonadal y una monosomía X. A estas pacientes, exclusivamente, se refiere el presente trabajo.

Consideraciones sobre el Origen de las Anomalías Cromosómicas en el Síndrome de Turner:

La constitución cromosómica XO (ver Figura N° 23) se puede conformar, desde un punto de vista teórico: a) En el momento de la fecundación, si el óvulo o el espermatozoide carecen del cromosoma sexual que normalmente llevan, y b) Después de la fecundación, durante las primeras divisiones mitóticas del cigote.

En el primer caso se trataría de un error en la meiosis de las células paternas por causas no establecidas * +. En el segundo de un error de mitosis que conlleva a la pérdida de un cromosoma X o del cromosoma Y en la primera segmentación o en segmentaciones posteriores¹⁰⁹.

En favor de este último punto están: 1. El hallazgo de gemelos monovulares XO y XY^{108 128 129}; en nuestro caso N° 3, con constitución XO/XX, la hermana gemela tiene un test de cromatina normal lo cual hace pensar en un cariotipo normal XX. 2. El gran número de mosaicos para anomalías de cromosomas sexuales, y 3. Especialmente si se mira enfrentado al origen de la trisomía G1, la ausencia de relación con la edad paterna o materna^{105 130 131} (Véase además Cuadro N° 2).

A propósito de esto es importante anotar hipótesis como la de Mikamo¹³², quien cree que la anomalía cromosómica en el síndrome de Turner se produzca por una sobremaduración del óvulo en el ovario independientemente de la edad materna. Existen, por otra parte, trabajos experimentales en ratones que muestran una mayor incidencia de aberraciones cromosómicas cuando por efecto de droga se aplaza la ovulación¹³³. Este punto, sin embargo, no ha tenido una comprobación definitiva.

La diferencia en los patrones clínicos puede ser relacionada con el momento del desarrollo embrionario en que se efectúa y la distribución en líneas celulares de dicha pérdida.

Aun dentro de las pacientes con la constitución XO solamente y las pacientes con mosaicos es posible que la patogénesis sea diferente en el sentido de cuál sea el momento de la división del cigote en que se produce dicha anomalía.

Los casos de pacientes con disgenesia gonadal y constitución cromosómica anormal (monosomía del bra-

* Inicialmente se pensó que los gametos con ausencia de cromosoma sexual eran no fecundantes¹⁴⁰.

+ Sin embargo hay informes en la literatura que contradicen lo anterior, tales como el informe de Vianello et al.²⁹.

zo corto del cromosoma X) y los de disgenesia gonadal pura (es decir sin anomalía cromosómica, y signos clínicos de Turner) tendrían un origen diferente. En los primeros juega un papel muy importante el material genético; en los segundos operarían otras causas diferentes (virales, infecciosas, inmunidad, anoxia, presencia de una sola arteria en el cordón umbilical y otros factores ambientales intrauterinos, causas que tendrían una influencia local sobre la gonada embrionaria⁴⁵).

Sohval⁴⁵ refiriéndose a los estudios de Hoffenberg y Jackson^{124 135} da una explicación desde el punto de vista teórico sobre un posible lazo de unión entre el síndrome de Turner y la disgenesia gonadal pura diciendo que existen tres genes (I A y S). El gene I para el infantilismo, el A para las diferentes anomalías del Turner y el S para la corta estatura. Según su explicación la disgenesia gonadal pura sería producida por el gene I solamente, a su vez el S de Turner sería la unión de los tres genes, S, T y A.

Por otra parte parece no existir relación entre la frecuencia del síndrome de Turner y la posición que ocupe la paciente dentro de las gestaciones de la madre (Véase Cuadro N° 2).

Es interesante anotar (Cuadro N° 2) la alta frecuencia de abortos en algunas madres de nuestras pacientes, si se relaciona esto con la alta letalidad de la constitución XO, (Roberts dice que solamente uno en 14 zigotes con constitución XO, sobrevive. Los otros son abortados es-

pontáneamente en las primeras semanas de gestación).

El estudio de Fregusson-Smith sobre 307 pacientes recolectados de varios autores demuestra que las pacientes con cariotipo XO, XX^I, o Xx (no mosaicos) exhiben un síndrome de Turner completo mientras que aquellas con X^s, X^{sI} (no mosaicos) no lo tienen. Además, en aquellas pacientes, mosaicos con líneas celulares normales XX encontró un espectro variable de hallazgos clínicos que van desde la mujer normal hasta el fenotipo de síndrome de Turner. Dicho autor interpreta estos hallazgos como que la falta del brazo corto del cromosoma X conduce a la manifestación del síndrome de Turner. (Dicha falta puede ser por pérdida de sustancia cromosómica o por ausencia total del cromosoma). En los casos de mosaicismo, el fenotipo depende de la mayor o menor proporción de células con falta del brazo corto del cromosoma X, sea en forma de XO, XX^I, o Xx. En el caso de deficiencia el fenotipo depende de la cantidad de material cromosómico perdido.

Otro hallazgo cariológico, que tiene que ver igualmente con pérdida de material cromosómico, es el de cromosomas Xp, Xr. La mayoría de los casos descritos corresponde a cromosomas Xp, universal o mosaico. Presentamos el cariotipo de una paciente con mosaico 45XO/46XXr (Véase foto N° 27 y cuadro N° 1).

El hallazgo de fenotipos de Turner en pacientes con genitales externos masculinos o intersexuados, cuyo cariotipo muestra una constitución XO/

- XX^I = Isocromosoma para brazos largos.
- X^{sI} = Isocromosoma para brazos cortos.
- Xx = Pérdida de brazos largos.
- Xx = Pérdida de brazos cortos.
- Xp = Cromosoma X en anillo (grande)
- Xr = Cromosoma X en anillo (pequeño)

XY, y presencia de gonadas con algún desarrollo testicular (como en nuestro caso N° 15) ha hecho pensar en la existencia de "loci" en el cromosoma Y homólogos con el "loci" del cromosoma X. Esta apreciación, de tiempo atrás sugerida, ha tenido en los dos últimos años demostraciones diferentes. Fundamentalmente, los estudios con fluorescencia de células germinales¹³⁷ y por otra parte trabajos citogenéticos refinados en el mismo material¹³⁸ han puesto en evidencia la asociación entre brazo corto de cromosoma X y brazo corto de cromosoma Y, sugiriendo el posible intercambio de "loci" entre dichas porciones cromosómicas. Son estas investigaciones las que apoyan la hipótesis de intercambio entre cromosomas X y Y para explicar la existencia de los casos descritos de individuos XX con fenotipo masculino¹³⁹.

Resulta entonces que el síndrome de Turner correspondería a una deficiencia de cierto número de estos "loci", así: la deficiencia de una gran parte del cromosoma X puede conducir a la presencia de gonadas fibrosas y la falta de brazo corto del mismo llevaría a la corta estatura y mayor o menor número de signos clínicos del síndrome de Turner antes descritos. El estudio de Barakat et al¹⁴⁰ presenta como única relación positiva cariotipo-fenotipo, la existente entre corta estatura y monosomía del brazo corto del cromosoma X.

Quedaría por explicar el hallazgo de signos clínicos de Turner en pacientes con cariotipo normal. La opinión general es de que puede tratarse de mosaicos no detectados o de posibles deficiencias de los cromosomas sexuales no detectables por las técnicas actuales.

De acuerdo a los experimentos de Jost^{133, 134} que demuestran que las gonadas embrionarias masculinas normales dirigen el desarrollo de las estructuras genitales, hacia genitales masculinos y su ausencia produce desarrollo femenino, los casos de pacientes XO/XY podrían explicar la existencia de testículos (poco desarrollados) y genitales internos incompletos, por la aberración del cromosoma Y, el cual no sería capaz de producir un desarrollo genital masculino completo. Por otra parte, al parecer, no todo un cromosoma X es inactivado según la hipótesis de Lyon, sino que por lo menos algunos genes del brazo corto permanecen genéticamente activos. Esta parte activa tendría sus genes homólogos en el cromosoma Y. En el caso de presentarse en forma única sea en el cromosoma X o en el Y (por ejemplo XO, XO/XY, XO/XX) se produciría un síndrome de Turner.

Recientemente Hecht et al¹⁴¹ presentaron un caso de una paciente con cuadro clínico de síndrome de Turner cuyo cariotipo mostró una pérdida de sustancia del brazo largo del cromosoma X, hecho que discrepa con los hallazgos de Ferguson-Smith¹³⁶. Además de esto hay varios informes en la literatura^{142, 143} en los cuales la pérdida de sustancia cromosómica del brazo largo del cromosoma X produce esterilidad y amenorrea sin los signos clínicos del síndrome de Turner.

Estudios Cromosómicos

Los estudios cromosómicos de nuestras pacientes fueron hechos a partir de sangre periférica por el método de Moorhead et al¹⁴⁴ con algunas modificaciones. Los resultados y la distribución de las variedades de fórmula cromosómica se muestran en el Cuadro N° 1.

CUADRO N° 3

Exámenes oftalmológicos de siete de nuestros pacientes.

CASO	AGUDEZA VISUAL		TEST DE ISHIHARA	BIOMICROS COPIA		TONOMETRIA (SCHIOTZ)		QUERATOMETRIA	
	D	I		D	I	D	I	D	I
Dedos									
1	20/20	α 1,5 m.	N	N	N	17	12	43-43,5 (10)	42,25-44,5 (155)
8	20/20	20/30	N	N	N	12	12	44-45 (180)	43,5-44,25 (175)
19	20/30	20/25	N	N	N	17	17	42,5-44 (180)	42,5-43,5 (175)
18	20/20	20/20	N	N	N	14,5	14,5	42,5-42,5	42,5-42,5
10	20/40	20/40	—	N	N	—	—	46-48,5 (180)	46,5-48,25 (180)
7	20/20	20/20	N	N	N	10	12	41-41,5 (10)	41,5-41,75 (170)
20	20/60	20/300	N	N	N	—		44-45 (30)	43-46 (170)

CUADRO N° 3-A

Continuación de N° 3

Exámenes oftalmológicos.

CASO N°	D	ESQUIASCOPIA		FUNDOSCOPIA	MOTILIDAD OCULAR
		D	I		
1	Astigmatismo hiper-metrópico simple	Astigmatismo hiper-pico compuesto		Nl.	—
8	Astigmatismo hiper-metrópico simple	Hemétrope		Nl.	Exoforia alternante
19	Astigmatismo miópico simple	Astigmatismo miópico simple		Nl.	Exoforia alternante
18	Astigmatismo hiper-metrópico simple	Hemétrope		Nl.	Exoforia alternante
10	—	—		Nl.	—
7	Astigmatismo miópico simple	Astigmatismo miópico simple		Nl.	Exoforia alternante
20	Miopía.	Astigmatismo miópico compuesto		Nl.	Esotropia ojo izq. de +15°

CUADRO N° 4

Hallazgos radiológicos.

PACIENTE N°	CARIOTIPO	EDAD CRONOLOGICA (AÑOS)	EDAD OSEA (AÑOS)	DESMINERA- LIZACION	COLUMNA CERVICAL	RODILLAS
N. R. 1	XO	17	13 6/12	+		
R. G. 7	XO	19 6/12		+		
H. C. 8	XO	13 7/12	10	+	Normal	Hipertrofia bilateral del cóndilo femoral inter- no con aplanamiento del platillo tibial.
C. P. 10	XO	5 7/12	3 6/12	+		Hipertrofia del cóndilo femoral interno y apla- namiento del platillo tibial.
F. P. 18	XO	10 9/12	9	+	Normal	" "
B. G. 19	XO	18 5/12	17	+	Normal	Normales
M. A. 20	XO/XX/XXX	17 2/12	13 6/12	+	Normal	Discreta hipertrofia bi- lateral del cóndilo fe- moral interno y apla- namiento platillo tibial
M. M. 21	XO/XX/XXX	16	12	+		Hipertrofia del cóndilo femoral interno (bila- teral) y aplanamiento del platillo tibial.
A. V. 22	XX/XXr	10 9/12	7 10/12	+		

CUADRO N° 4 (continuación)




















Hallazgos radiológicos.

PACIENTE N°	CARIOTIPO	SIGNO DEL METACARPIANO	PREPONDE RANCIA FALANGICA	ANGULO CARPAL	DEFORMIDAD DE MADELUNG	TORAX
N. R.						
1	XO	—	+	139—	—	
R. G.						
7	XO	—	—	117+	+	Normal
H. C.						
8	XO	—	—	144—	—	
C. P.						
10	XO	—	—	*	—	
F. P.						
18	XO	—	+	123+	—	
B. G.						
19	XO	—	—	132—	—	Normal
M. A.						
20	XO/XX/XXX	—	—	138—	—	
M. M.						
21	XO/XX/XXX				—	Normal
A. V.						
22	XX/XXr	+	+	135—	—	Normal

* A esta edad no es posible establecer el ángulo

CUADRO N° 6

Frecuencia de los signos clínicos en nuestros pacientes.

	0	5	10	15	20	22	%
Corta estatura							90,9
Infantilismo sexual							81,8
Cuello corto							77,2
Separación anormal de los pezones							54,5
Implantación baja del cabello							50,0
Cubitus valgus							50,0
Paladar ojival							45,4
Implantación baja de orejas							31,8
Linfedema							27,2
Hipertelorismo ocular							27,2
Nevus pigmentarius							18,1
Genu valgum							18,1
Ptosis palpebral							13,6
Epicantus							13,6
Pterigium colli							13,6
Hipoplasia ungüéal							13,6
Clitoris hipertrófico							13,6
Micrognatia							9,0
Otras anomalías Cardiovasculares							9,0

* Excepto la coartación de aorta que solamente fue encontrada en una paciente.

CUADRO N° 7

Valores hormonales en siete de nuestros pacientes.

PACIENTE N°	P. B. I. (Y)	F. S. H. (U.)	17-CETO mg/24 h.	17-OH mg/24 h.
4	6,6	+72	7	3,9
6	9,1			
8	4,44	+72		
15	4,5		5,8	2,1
19	6,4			
20	6,4	+39 —78		
21	8,0	+39 —72	3,1	1,9

Vale la pena anotar aquí que según los estudios de Ferrier¹⁴⁵ el diagnóstico cariológico a partir de sangre periférica descarta en gran parte la posibilidad de un mosaico no detectado.

Los estudios autorradiográficos en nuestras pacientes fueron hechas según el método descrito por Schmid¹⁴⁶. El método autorradiográfico se ha mostrado hasta el momento como el procedimiento ideal para marcar uno de los dos cromosomas X presentes en las células de mamíferos hembras. Su carácter distintivo lo da el hecho de ser el cromosoma con tiempo de replicación más tardío en todo el cariotipo. En general, en todos los casos de trastornos de cromosomas X es dicho cromosoma el que se encuentra afectado¹⁴⁷. Así, en la monosomía de cromosoma X (XO) el cariotipo mostrará ausencia del cromosoma de replicación tardía (ver foto N° 24), de la misma manera que en los aumentos de número de cromosomas X (trisomía, tetrasomía, pentasomía) las que están en exceso presentan replicación tardía. Esto explica además la correspondencia existente entre el número de cromosomas X y cuerpos de cromatina sexual (ver foto N° 25).

Los estudios de localización in situ de heterocromatina fueron readaptados de acuerdo a la técnica descrita por Arrighi^{147 148}. Dado que este procedimiento marca solo la heterocromatina constitutiva (autosómica) y no la heterocromatina facultativa (sexual) la marcación de cromosomas X no presenta la misma selectividad que brinda el método autorradiográfico (ver foto N° 26).

Pacientes con cariotipo XO/XY

Las pacientes con cuadro clínico de Turner cuyo cariotipo es un mosaico que encierra el cromosoma Y (XO/XY, XO/XYY, etc.) constituyen una excepción al fenotipo femenino del síndrome de Turner. En ellas el fenotipo es muy variable: pueden tener un fenotipo femenino, genitales externos ambiguos, o fenotipo masculino. A su vez la diferenciación gonadal es muy variable: puede suceder que el desarrollo sea asimétrico, es decir, que en un lado se encuentre un ovario fibroso y en el otro un testículo o sus rudimentos (tal es el caso de nuestra paciente N° 15); o sea en lugar de ovarios fibrosos, unos testículos disgenéticos.

Resumen de las Historias Clínicas *

Caso 1. N. R. Edad 17 años. Consultó por retraso del crecimiento y amenorrea primaria. Hija de una G12 P11 A₂. Edad de la madre al nacer la paciente: 21 años. Los embarazos que le precedieron concluyeron en un aborto a los cinco meses y un parto gemelar (mortinatos). Dos de sus hermanos presentan un estrabismo convergente. Parto en presentación podálica mostrando al nacer linfedema dorsal bilateral de ambos pies e hipoplasia ungüal. Al examen, talla 132 cm. Normocéfala, hipertelorismo ocular, pliegue palpebral horizontal, alopecia congénita de parte media de las cejas, cuello corto de base ancha sin pterigium (Figura N° 2), separación anormal de los pezones, diámetro torácico 78 cm., ausencia de vello axilar y pubiano, hipodesarrollo de glándulas mamarias, cubitus valgus, hipoplasia ungüal. Amenorrea primaria. El test de cromatina practicado a partir de células de mucosa oral fue negativo. El estudio cromosómico en sangre periférica mostró falta de un cromosoma del grupo C. Cariotipo XO.

* El análisis de los dermatoglifos y los hallazgos radiológicos se encuentran en los cuadros N° 4 y N° 4a respectivamente; los datos del examen físico que fueron normales se excluyen de este resumen.

Caso 2. C. M. Edad 17-10/12 años. Consultó por retardo del crecimiento y amenorrea primaria. Producto del tercer embarazo de una G8 P7 A1. Gestación y parto normales. El primer embarazo de la madre concluyó en un aborto espontáneo de 21 semanas. No hay consanguinidad entre los padres. Al examen: talla 128 cm., envergadura 128 cm., normocéfala, facies normal, cuello corto, implantación baja del cabello, hipodesarrollo de glándulas mamarias, ausencia de vello pubiano y axilar. El test de cromatina sexual fue positivo en un 70% (analizados 200 núcleos). El estudio cromosómico se resume así:

		Total
25	15	40
= XX/X0		
46XX	45X0	

Caso 3. C.R. Edad 5-6/12 años. Consultó por "sexo imperfecto". Hija de una G7 P5 A3. Tres embarazos de la madre concluyeron en abortos aproximadamente de 21 semanas, hubo un año de intervalo entre el último aborto y el embarazo gemelar (el de la paciente). La madre recibió durante este último embarazo quinina. La hermana gemela es fenotípicamente normal y el test de cromatina practicado en ella fue positivo. Al examen: talla 98 cm., normocéfala, hipertelorismo ocular, implantación baja de orejas, paladar ojival, cuello corto de base ancha, diámetro torácico 57 cm., separación anormal de los pezones. Al examen de los genitales externos se encontró el labio mayor derecho de tipo escrotal, clítoris hipertrofico, esbozo de vagina y en su parte dorsal meato urinario normal, no se palparon masas en labios mayores o conductos inguinales (Figura N° 3), cubitus valgus. El estudio cromosómico se resume así:

		Total
45	5	50
= XX/X0		
46XX	45X0	

Caso 4. T. F. Edad 22 años. Consultó por amenorrea primaria, "parálisis facial" y "dispepsia". Hija de una G7 P7 A0. Gestación y parto normales. Edad de la madre al nacer la paciente: 40 años. Al examen: talla 130 cm. T. A. 100 x 60, implantación baja del cabello, cuello corto sin pterigium, lengua geográfica, cubitus valgus y genu valgum, separación anormal de los pezones, hipodesarrollo de glándulas mamarias, ausencia de vello axilar y pubiano. F.S. H. + 39 — 72 unidades. P. B. I. 6,6. 170H 3,9 17 ceto. 7,0 mg/24h. Cariotipo X0.

Caso 5. A. R. Edad 14 días. Remitido con el diagnóstico de síndrome de Pierre Robin y posible síndrome de Turner. Hija de una G4 P4 R0. Gestación de 38 semanas, parto espontáneo normal. Al examen: recién nacido, de peso 3.550 g., talla 45 cm. Apgar 3/10. Piel gruesa, esbozo de pterigium colli, normocéfala, implantación baja y posterior de las orejas, micrognatia, paladar ojival hendido, panículo adiposo abundante. Hipotonía muscular, linfedema de dorso y cuello de ambos pies, soplo sistólico grado I en tercer y cuarto espacios intercostales izquierdos.

Estudio cromosómico:

		Total
95	5	100
= XX/X0		
46XX	45X/0	

A la autopsia se encontró además de los signos anotados un conducto arterioso persistente y un foramen ampliamente permeable. El útero, los ovarios y las trompas eran normales.

Caso 6. L. R. Edad 17-3/12. Consultó por proceso febril. Producto del primer embarazo de una G3 P3 A0. Gestación normal. Al examen: talla 120 cm. (a la edad de 13 años). T. A. 120 x 60. Cuello corto ligeramente palmeado, separación anormal de los pezones, hipodesarrollo de glándulas mamarias, ausencia de vello axilar y pubiano, amenorrea primaria. F. S. H. + 72 U. P. B. J. 9,1. Estudio cromosómico X0.

Caso 7. R. G. Edad 19-6/12. Consultó por amenorrea primaria. Producto del tercer embarazo de una G4 P4 A0. Los hermanos son "normales". Al examen: talla 144 cm. Ligera ptosis palpebral, orejas de implantación baja, manchas hiperpigmentadas en escleróticas, paladar ojival, cuello corto, pterigium colli, implantación baja del cabello (Figura N° 12), hipoplasia ungüal, genitales externos infantiles, cubitus valgus y genu valgum, ligero retardo mental. A la laparatomía se encontró un útero infantil, reducido a un pequeñísimo nódulo (Figura N° 5) en el cual el cuello predomina ampliamente sobre el cuerpo, tropas hipoplásicas inmediatamente debajo de las cuales y en la zona correspondiente al ovario, se observó un fino cordón nacarado de aproximadamente 2 cm. x 1 mm. La biopsia (Figura N° 8) mostró una gónada fibrosa. Estudio cromosómico X0.

Caso 8. A. C. Edad 13-7/12. Consultó por infantilismo sexual y corta estatura. Producto del cuarto embarazo de una G9 P7 A2. El primer embarazo concluyó en un aborto espontáneo de cinco meses y el tercero fue un embarazo molar (dos meses después se inició el cuarto embarazo). Peso al nacimiento 2.000 g. Antecedentes de otitis media bilateral frecuente. Al examen: talla 102 cm., cabello de implantación baja, abundantes nevus pigmentarios, a la otoscopia se encontró perforación del tímpano izquierdo. Cuello corto, separación anormal de los pezones, ausencia de vello axilar y pubiano. P. B. I. 4,44. Citología vaginal: frotis atrófico. Test de cromatina negativo. Estudio cromosómico X0.

Caso 9. E. S. Edad 23 años. Consultó por amenorrea primaria. Producto del tercer embarazo de una G3 P3 A0. Parto a término normal. Recién nacido con linfedema dorsal bilateral de pies. Al examen: talla 130 cm. T. A. 120 x 80, microcefalia, estrabismo de ojo izquierdo, cuello corto de base ancha, paladar ojival, lengua geográfica, tórax corto de base ancha, cubitus valgus, genu valgum, separación anormal

de los pezones, hipodesarrollo de glándulas mamarias, ausencia de vello axilar y pubiano. Genitales externos femeninos infantiles, himen intacto, al tacto rectal nódulo que parecía corresponder al útero. Citología vaginal: frotis atrófico. Estudio cromosómico:

		Total
5	95	100
		= X0/XX
46XX	45X0	

Caso 10. C. P. Edad 5-7/12 años. Consultó por sintomatología cardiovascular. Producto del tercer embarazo de una G4 P2 A2. Parto a las 32 semanas de gestación. Recién nacido peso 1.625 g. Actualmente: talla 78 cm., hipertelorismo ocular, cuello corto, separación anormal de los pezones, genitales externos normales, cubitus valgus mínimo, hipoplasia ungüal, estenosis aórtica comprobada radiológicamente y por cateterismo cardíaco. Se llevó a Cirugía encontrándose coartación de la aorta inmediatamente por debajo del sitio de implantación de un ductus arterial permeable. Se practicó corrección quirúrgica, actualmente asintomática desde el punto de vista cardiovascular. Estudio cromosómico X0.

Caso 11. D. R. Edad 1-2/12 años. Diagnosticada como síndrome de Turner al nacimiento. Producto del segundo embarazo de una G2 P2 A0. Peso al nacer 2.500 g. Al examen de recién nacido se encontró un hemangioma en párpado superior derecho, orejas de implantación baja, implantación baja del cabello, cuello corto, pterigium colli marcado (Figura N° 14), separación anormal de los pezones, genitales externos femeninos normales (en la región inguinal izquierda se palpó una pequeña masa ¿testículo?), clinodactilia de quinto dedo de mano izquierda, linfedema dorsal en ambos pies (Figura N° 15). Estudio cromosómico X0 (100% de las células examinadas).

Caso 12. H. G. Edad 16-9/12 años. Consultó por sintomatología cardiovascular. Al examen: talla 127 cm., exoftalmos bilateral, cuello corto, pterigium colli, hipacusia derecha, menarquia a los 9 años, ciclos regulares, posteriormente amenorrea secundaria precoz, linfedema de pierna derecha, soplo sistólico de eyección grado III en segundo espacio intercostal izquierdo, segundo ruido disminuido de intensidad, a la fluoroscopia se observó cardiomegalia a expensas de cavidades derechas. E. C. G. hipertrofia ventricular derecha de tipo sobrecarga sistólica e hipertrofia de aurícula derecha, por cateeterismo se hizo diagnóstico de estenosis pulmonar. A la cirugía se encontró una C. I. A. de tipo defecto ventana oval, estenosis pulmonar valvular. Diagnósticos finales: Trilogía de Fallot-Estenosis Pulmonar. Estudio cromosómico X0.

Caso 13. V. L. Edad 7-2/12 años. Consultó por estado intersexual. Producto del tercer embarazo de una G3 P3 A0. Presentó al nacimiento linfedema en dorso de manos y "fue muy pequeña". Al examen: talla 98 cm., cubitus valgus, genu valgum, clitoris hipertrófico, orificios vaginal y uretral de aspecto y situación normales. Test de cromatina sexual negativo. Estudio cromosómico:

		Total	= XX/X0
25	45	70	
46XX	45X0		

Caso 14. G. O. Edad, un día. Remitida con diagnóstico de Focomelia para estudio. Producto del último embarazo de una G9 P9 A0. Edad de la madre al nacer la paciente: 37 años. Durante la última gestación presentó hemorragia genital a las 21 semanas. Peso al nacer, 2.050 g., talla 45 cm., epicantus y desviación ligera del ángulo palpebral externo hacia arriba, implantación baja y posterior de orejas, paladar ojival, micrognatia, cuello corto, pterigium colli, implantación baja

del cabello, tórax escutiforme, separación anormal de los pezones, genitales externos femeninos normales, a la palpación se encontró aplasia de la parte distal de los huesos del antebrazo derecho, particularmente del radio (estos hallazgos se comprobaron radiológicamente). Las pocas metafases estudiadas mostraron falta de un cromosoma del grupo C, pero el estudio no fue posible repetirlo por muerte de la paciente. El estudio cromosómico se clasificó como X0.

Caso 15. M. P. Edad 17-5/12 años. Consultó por detención del crecimiento y clítoris hipertrófico. Producto del primer embarazo de una G3 P3 A0. Edad de la madre al nacer la paciente: 22 años. Peso bajo al nacimiento. Creció normalmente hasta los seis años, cuando se observó detención del crecimiento, adrenarquia a los 13 años, amenorrea primaria. Al examen: talla 134 cm., envergadura 140 cm., cuello ancho, hipodesarrollo de glándulas mamarias, vello axilar muy escaso, vello pubiano de implantación ginecoide, clitoris hipertrófico con capuchón redundante sin ningún orificio, labios mayores y menores de aspecto normal, himen íntegro y normal. Al tacto rectal no se apreció ninguna estructura que pudiera corresponder al útero o anexos. Además de esto paladar ojival, cabello de implantación baja y cubitus valgus moderado. Citología vaginal: frotis atrófico. A la laparatomía se encontró una bandeleta transversa en cuyo centro se observaba un engrosamiento muscular que correspondía a esbozo de útero. Al extremo derecho se halló un pabellón tubárico y dos pequeñas masas: una masa de un centímetro de diámetro, de coloración grisácea y superficie lisa y otra masa externa de diámetro menor, blanda y de color amarillento, las cuales mostraron al estudio anatomopatológico hiperplasia de células de Leyding (testículo) y epidídimo de aspecto normal respectivamente. Al lado izquierdo se encontró una masa constituida por tejido graso. Test de cromatina negativo. F. S. H. +₂ 72 U. 17OH. 2,1 mg/24h. 17ceto. 5,8 mg/

24h. P. B. I. 4,5. Estudio cromosómico X0/Vy (Figura N° 3).

Caso 16. A. V. Edad 21 años. Consultó por amenoreea primaria. Producto del primer embarazo de una G5 P5 A0. Al examen: talla 131 cm. Acrocianosis y pigmentación melánica peribucal y de mucosas orales, cabello de implantación baja, cubitus valgus, hipodesarrollo de glándulas mamarias. Test de cromatina negativo. Estudio cromosómico X0.

Caso 17. E. P. Edad 13-6/12 años. Remitida con diagnóstico de síndrome de Turner. Producto del décimoprimer embarazo de una G12 P12 A0. Gestación y parto normales. Al examen: talla 110 cm., cuello corto de base ancha, orejas de implantación baja, hipodesarrollo de glándulas mamarias, separación anormal de los pezones, pezón derecho retraído, genitales externos femeninos infantiles. Estudio cromosómico X0, confirmado por estudio autorradiológico.

Caso 18. F. P. Edad 10-9/12 años. Consultó por luxación congénita de cadera. Producto del segundo embarazo de una G4 P4 A0. Edad de la madre al nacer la paciente: 22 años. Recién nacida de bajo peso con hernia inguinal derecha y prolapso rectal. Al examen: talla 98 cm., hipertelorismo ocular, epicantus moderado, paladar ojival, cuello corto, pterigium colli (Figura N° 11), implantación baja del cabello. Estudio cromosómico X0; comprobado por autorradiografía (Figura N° 24-b).

Caso 19. B. G. Edad 18-5/12 años. Consultó por amenorrea primaria. Producto del séptimo embarazo de una G8 P8 A0. Gestación y parto normales. Al examen: talla 136 cm., cabello de implantación baja, hipertelorismo ocular, cuello corto de base ancha, abundantes nevus pigmentarios (Figura N° 9), cubitus valgus, ausencia de vello axilar y pubiano, genitales externos femeninos infantiles. Citología va-

ginal: frotis atrófico. P. B. I. 6,4. Estudio cromosómico X0, comprobado por autorradiografía.

Caso 20. M. A. Edad 17-2/12 años. Consultó por ptosis palpebral bilateral y corta estatura. Producto del cuarto embarazo de una G5 P5 A0. Gestación y parto normales. Al examen: talla 135 cm., cuello corto, implantación baja del cabello, ptosis palpebral bilateral, estrabismo convergente del ojo izquierdo, paladar ojival, piel áspera y rugosa especialmente en cara, genitales externos femeninos infantiles. Amenorrea primaria. F. S. H. 6,6 U. P. B. I. 6,4. Test de cromatina: en algunos núcleos se encontraron dos cuerpos de cromatina de tamaño y aspecto normal, en otros se encontró un cuerpo de cromatina y en otros ausencia del cuerpo de cromatina. Estudio cromosómico XX/X0/XXX, comprobado por autorradiografía.

Caso 21. M. M. Edad 16 años. Producto del tercer embarazo de una G6 P6 A0. Edad de la madre al nacer la paciente: 34 años. Desarrollo normal hasta los diez años cuando empezó a presentar retardo del crecimiento. Al examen: talla 124 cm., envergadura 129 cm., hipertelorismo ocular, epicantus externo, ptosis palpebral derecha, paladar ojival, presencia de abundantes nevus pigmentarios, separación anormal de los pezones, genitales externos femeninos infantiles, cubitus valgus mayor al lado izquierdo. Al tacto vaginal se palpó pequeño cordón en fondo de saco, sin que se lograra palpar útero ni anexos. 17-ceto. 3,1 mg/24h. 17OH. 1,9 mg./24h. P. B. I. 80. F. S. H. + 39 U. —78 U. Estudio cromosómico XX/X0/XXX; comprobado por autorradiografía. Test de cromatina sexual, es igual al caso anterior.

Caso 22. A. V. Edad 10-9/12 años. Consultó por retardo del crecimiento. Producto del segundo embarazo de una G6 P4 A2. El primer embarazo concluyó en un aborto a las cuatro semanas de gestación. Edad de la madre al nacer la pa-

ciente: 31 años. Antecedentes de otitis media. Al examen: talla 109 cm., escasos nevus pigmentarius en cara, manchas hiperpigmentarias en escleróticas, implantación baja de orejas, paladar ojival, cuello corto, ausencia de vello axilar, sepa-

ración anormal de los pezones, areola y pezones infantiles, ausencia de vello pubiano, genitales externos infantiles. El test de cromatina fue negativo. El estudio cromosómico mostró una constitución X0/XXr (muy pequeño). (Véase Figura N° 27).

RESUMEN

Se presentan 22 pacientes con cuadro clínico y cariológico de síndrome de Turner completamente estudiados. Se hace una revisión de la literatura y se discuten las hipóte-

sis existentes sobre origen del problema cromosómico y su significación en los diferentes fenotipos del síndrome de Turner.

SUMMARY

Twenty wholly studied patients with Turner's phenotype, whose car-yologic studies confirm the chromosomal abnormality, are presented. A review of the literature on the subject has been done. Finally, a dis-

cussion on the hypothesis over the origin of the chromosomal abnormality and its significance in the various Turner's phenotypes is presented.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento a todos los médicos que con el envío de pacientes a nuestro laboratorio hicieron posible el presente estudio. Manifestamos además nuestro agradecimiento muy especial al doctor Armando Pérez, Jefe del Departamento de Radiología de la Fac. de Med. de la U. Nal. de

Colombia, por haber hecho posible el estudio radiológico de las pacientes y su interpretación. Agradecemos también al doctor Juan Martín Romero, de la Unidad de Oftalmología, Fac. de Med. de la U. Nal. de Colombia, por los estudios oftalmológicos.

REFERENCIAS

1. Neuhaus, E.: *Ein Seltener Fall von Aplasie der Hoden* Schmidt & Klauning. Kiel, 1890.
2. Olivet, J.: *Über den angeborenen Mangel beider Eirstöcke*. Frankf. Zschr. Path. 29: 477, 1923.
3. Randerath, E.: *Über einen Fall von angeborenen Mangel beider Eirstöcke*. Virchows Arch. Path. Anat. 254: 798, 1925.
4. Baer, W.: *Vollkommene angeborene Aplasie beider Ovarien, infantiles Genitale, virilär Habitus*. Zbl. Gynäk. 51: 3.241. 1927.
5. Schurmann, P.: *Über einen Fall von allgemeinen Infantilismus, bedingt durch beiderseitigen Eierstockmangel*. Virchows Arch. Path. Anat. 263: 649, 1927.

6. Rössle, R.; Wallart, J.: **Der angeborene Mangel der Eierstöcke und seine grundsätzliche Bedeutung für die Theorie der Geschlechtsbestimmung.** Beitr. Path. Jena 84: 401, 1930.
7. Ullrich, O.: **Über typische Kombinationsbilder multipler Abartungen.** Zschr. Kinderh. 49: 271, 1930.
8. Lenz, W.: **Anomalías de los cromosomas sexuales, disgenesis gonadales, intersexualidad,** en *Genética Humana* Ed. por P. E. Becker, Ediciones Toray, S. A. Barcelona, 385, 1968.
9. Kuliga.: **Demonstration eines Falles von vollständigem Fehlen der beiden ovarien.** Mschr. Geburtsh. 86: 139, 1930.
10. Priesel, A.: **Die Mißbildungen der männlichen Geschlechtsorgane.** In: *Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie.* Bd. VI. Springer, Berlin, 1931.
11. Graber, H.: **Ein Beitrag Zur Frage der Ovarialaplasie unter besonderer Berücksichtigung eines Falles von beidseitigen Fehlen der Ovarien bei einem Neugeborenen.** Virchows Arch. Path. Anat. 299: 80, 1937.
12. Tronci, L.: **Infantilismo femminile e aplasia ovarica.** Riv. Ital. Ginec. 21: 627, 1938.
13. Turner, H.: **A syndrome of infantilism, congenitally webbed neck, and cubitus valgus.** Endocrinol. 23: 566-574, 1938.
14. Sharpey-Schaffer, E. P.: **A case of pterygonuchal infantilism.** Lancet 2: 559-560, 1941.
15. Varney, R. F.; Kenyon, A. T.; Koch, F. C.: **An association of short stature retarded sexual development and high urinary gonadotropin titers in women.** J. Clin. Endocrinol. 2: 137, 1942.
16. Albright, F.; Smith, P. H.; Fraser, R.: **Syndrome characterized by primary ovarian insufficiency and decreased stature: Report of 11 cases with digression on hormonal control of axillary and pubic hair.** Am. J. M. Sci. 204: 625, 1942.
17. Wilkins, L.; Fleischmann, W.: **Ovarian agenesis: pathology, associated clinical symptoms and the bearing on the theories of sex differentiation.** J. Clin. Endocrinol. 4: 357, 1944.
18. Lisser, H.; Curtis, L. E.; Escamilla, R. F.; Goldbert, M. B.: **Syndrome of congenitally aplastic ovaries with sexual infantilism, high gonadotropins, short stature and other congenital anomalies; tabular presentation of 25 previously unpublished cases.** J. Clin. Endocrinol. 7: 665, 1947.
19. Obermass, J. W.: **Prepuberal diagnosis of ovarian agenesis: relationship to status Bonnevie-Ullrich.** J. Pediatrics, 47: 48, 1955.
20. Hauser, G. A.: **Gonadal dysgenesis, in: Intersexuality** Edited by Claus Overzier, Academic Press. London and New York. 298-9, 1963.
21. Polany, P. E.; Lessol, M. H.; Bishop, M. F.: **Colourblindness in "ovarian agenesis" (gonadal dysplasia).** Lancet 2: 120-21, 1956.
22. Ford, C. E.; Jones, K. W.; Polani, P. E.; Almeda, J. C.; De Briggs, J. H.: **A sex chromosome anomaly in a case of gonadal dysgenesis (Turner's Syndrome).** Lancet. London I, 711, 1959.
23. Jost, A.: **Recherches sur la différenciation sexuelle de l'embryon de lapin. III Rôle des gonades fœtales dans la différenciation sexuelle somatique.** Arch. Anat. Micr. Morph. Exp. 36: 271, 1947.
24. Jost, A.: **Embryonic sexual differentiation, morphology, physiology, abnormalities. In hermaphroditism, genital anomalies and related endocrine disorders.** Ed. H. W. Jones and W. Scott, Williams and Wilkins, Baltimore. 15, 1958.
25. Donaldson, Ch.; Wegienka, L.; Miller, D.; Forsham, P.: **Growth hormone studies in Turner's syndrome.** J. Clin. Endocr. & Metab. 28: 383, 1968.
26. Meadow, S.; Boucher, T.; Mushiter, K.; King M.; Stimmler, L.: **Growth hormone secretion in subjects with ovarian dysgenesis and Turner's syndrome.** Arch. Dis. Child. 43: 595, 1969.
27. Fraccaro, M.; Gemzeel, C.; Lindstein, J.: **Plasma level of growth hormone and chromosome complement in four patients with gonadal dysgenesis (Turner's syndrome).** Acta Endocrin. 34: 496, 1960.
28. Soykal, L.; Ziskind, A.; Crawford, J.: **Treatment of short stature in children and adolescent with human pituitary growth hormone (Raben) N. Eng. J. Med. 271: 754, 1964.**
29. Vianello, M.; Massimo, L.: **Aberraciones del cromosoma X en el sexo femenino.** Minerva Pediat. 17: 26, 1965.
30. Ziskind, A.: **Response to human pituitary growth hormone of 20 children with various types of dwarfism.** Amer. J. Dis. Child 102: 507, 1961.
31. Forbes, A. P.; Jacobsen, A.; Carral, E. L.; Pecbet, M. M.: **Studies of growth arrest in gonadal dysgenesis: response to exogenous human growth hormone.** Metabolism 11: 56, 1962.

32. Lewitus, Z.: **Ist uptake in Turner's syndrome.** The Journal of Clinical Endocrinol. and Metabolism. 22: 659, 1962.
33. Williams, E. D.; Engel, E.; Forbes, A. P.: **Thyroiditis and gonadal dysgenesis.** New Eng. J. of Med. Vol. 270, № 16, 1964.
34. Pitis, M.; Stanesco, V.; Florea, I.; Ionesco, V.; Poemarus, S.: **Sur 50 cas de Syndrome de Turner.** Sem. Hosp. Paris 39: 56, 1963.
35. Hsu, L.; Hirschorn, R.: **Unusual Turner mosaicism (45X/47XXX; 45X/ 46XXq; 45X/46-XXr); detection through deceleration from normal linear growth or secondary amenorrhea.** The J. of Ped. Vol. 79, № 2, 1971.
36. Lemli, L.; Smith, D. W.: **The X0 syndrome: a study of the differentiated phenotype in 25 patients.** The J. of Ped. 63: 577, 1963.
37. Haddad, H. M.; Wilkins, L.: **Congenital anomalies associated with gonadal aplasia. review of 55 cases.** Pediatrics 23: 885, 1959.
38. Conen, P. E.; Glass, J. A.: **45X0 Turner's syndrome in the newborn: Report of two cases.** J. Clin. Endocr. & Metab. 23: 1-10, 1963.
39. Singh, R. P.; Carr, D. H.: **The anatomy and histology of X0 human embryos and fetuses.** Anat. Rec. 155: 369-84, 1966.
40. Bore K.: **Gonadal dysgenesis in a newborn with X0 karyotype.** Amer. J. Dis. Child. 120: 363, 1970.
41. Mc Donough, P. et al.: **Gonadal dysgenesis with ovarian function, clinical and cytogenetics findings in six patients.** Obstet. Gynec. 37: 868, 1971.
42. Froland, A.; Lykke, A.; Zachavchristiansen, B.: **Ovarian dysgenesis (Turner's syndrome) in the newborn.** Acta Path. Microbiol. Scand. 57: (Suppl. 159-161) 21-30, 1963.
43. Kaufman, S.: **Vaginal bleeding in gonadal dysgenesis.** Pediatrics 37: 26, 1966.
44. Bahner, F.; Schwarz, G.: **Turner-syndrom mit voll ausgebildeten sekundären Geschlechtsmerkmalen und Fertilität.** Acta Endocr. (Xbh) 35: 397, 1960.
45. Sohval, A. R.: **The syndrome of pure gonadal dysgenesis.** Am. J. of Med. 38: 615, 1965.
46. Baramki, Th., et al.: **Early premature menopause. A report of six cases with cytogenetic findings.** Am. J. Obst. Gynec. 96: 991, 1966.
47. London, D. R.; Kemp, N. H.; Ellis, J. R.; Mittwoch, U.: **Turner's syndrome with secondary amenorrhea and sex chromosome mosaicism.** Acta Endocr. 46: 341-51, 1964.
48. Molina, R.; Greenblatt, R. B.; Rogers, J.: **Premature menopause - a "for me frustrate" of gonadal dysgenesis?** Am. J. Obst. &Gynec. 100: 1.148, 1968.
49. Gordon, R.: **Endocrine disorders in adolescence.** Le Practitioner, 206: 187, 1971.
50. Armendarces, S.; Buentello, L.; Sánchez, J.; Ortiz, M.: **X0/XX/XXX mosaicism without Turner's stigmata.** Lancet 2: 840, 1967.
51. Roberts, H.: **Gynecological problems in the young.** The practitioner. 206: 197, 1971.
52. Strader, W. J. et al.: **Hipertension and aortic rupture in gonadal dysgenesis.** The J. of Ped. 79: 473, 1971.
53. Anabtawi, J. R.; Ellison, R. G.; Yeh, T. J.; Holl, D. P.: **Dissecting aneurism of aorta associated with Turner's syndrome.** J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 47: 750, 1964.
54. Kostich, N. O.; Opitz, J. M.: **Ullrich-Turner's syndrome associated with cystic medial necrosis of the aorta and great vessels.** Amer. J. Med. 38: 943, 1965.
55. Salgado, C. R.: **Síndrome de Turner, comunicación de un caso asociado con aneurisma disecante de la aorta. Revisión de la literatura.** Rev. Fac. Cienc. Méd. Córdoba 19: 193, 1961.
56. Youker, J. E.; Roe, B.: **Aneurysm of the aortic sinuses an ascending aorta in Turner's syndrome.** Am. J. of Cardiology, 23: 89, 1969.
57. Rainier-Pope, C. R. et al.: **Cardiovascular malformations in Turner's syndrome.** Pediatrics 33: 919-25, 1964.
58. Vermont, P.; Carone, P.; De Gouchy, J.; De Geunes, J. L.; Emerit, I.: **Le coeur dans le syndrome de Turner-Ullrich.** Arch. Mal. Coeur. 59: 850, 1966.
59. Lintermans, J. P.: **Gonadal dysgenesis and hypoplastic left heart syndrome.** The J. of Ped. 76: 979, 1970.
60. Uson, A.; Braham, S.; Abrams, C.; Berdon W.: **Retrocaval ureter in a child with Turner's syndrome.** Amer. J. Dis. Child. 119: 267, 1970.
61. Polani, P.: **Turner's syndrome and allied conditions.** Brit. Med. Bull. 17: 200-205, 1961.

62. Fialkow, P.: **Autoimmunity and chromosomal aberrations.** The Am. J. of Human Gen. 18: 93, 1966.
63. Engel, E.; Forbes, A. P.: **Abnormal medium sized metacentric chromosome in a woman with primary gonadal failure.** Lancet, 2: 1.004, 1961.
64. Grumbach, M.; Morishima, A.: **X-chromosome abnormalities in gonadal dysgenesis: DNA replication of structurally abnormal X-chromosome: relation to thyroid disease.** J. Pediatr. 65: 1.087, 1964.
65. Grossmann, E.: **Pituitary gonadotropins in gonadal dysgenesis.** Pediatrics, 25: 298, 1960.
66. Pitis, M.; Klepsch, I.; Grigorescu, A.; Stănescu, W.; Rev. Roumaine Endocr. 8: 45-48, 1969.
67. Batrinos, M. L.; Mathieu de Fossey, B.; Aubert, P.: **Urinary excretions of adrenal hormones in gonadal dysgenesis and its response to corticotrophin and gonadotrophin stimulation.** Acta Endocr. 40: 247, 1962.
68. Sobrinho, L.; Kase, N.; Grunt, Y.: **Changes in adrenocortical function of patients with gonadal dysgenesis after treatment with estrogen.** J. Clin. Endocr. Met. 33: 110, 1971.
69. Lipset, M.: **Decreased adrenal androgen biosynthesis in patients with gonadal dysgenesis.** The J. of Clin. Endocr. Met. Vol. 22, No 2, 1962.
70. Gordon, R.: **The XO state, the syndrome and phenotype of Turner.** Clin. Pediatr. 6: 130, 1967.
71. Richart, R.; Benirschke, K.: **Gonadal dysgenesis in a newborn infant.** N. Eng. J. Med. 258: 974-78, 1958.
72. Shapiro, L.; Hsu, L.; Hirschhorn, K.: **Extraposterior cervical skin: a possible sign of chromosome aberration in infancy.** The J. of Ped. 77: 690, 1970.
73. D'olsnitz, M.; De Swarte, M.; Vaillant, J. M.: **Lymphedème congénital et syndrome de Turner.** Ann. Pediatr. 18: 17-23, 1971.
74. Benson, P. F.; Gough, M.; Polani, P. E.: **Lymphangiography and chromosome studies in female with lymphedema and possible ovarian dysgenesis.** Arch. Dis. Child. 40: 27, 1965.
75. Servelle, M.: **Lymphographie et éléphantiasis.** Gaz. Med. Fr. 75: 6.261, 1.968.
76. Cordier, J.; Tridon, P.; Remy, A.: **Syndrome de Turner et rétinite pigmentaire.** C. R. 1er. Congr. Int. neuro-génétique et neuro-opht (Karger, Basel/New York 1968) Journal de Génétique Humaine.
77. Laurent, Boyer and Neel. Bull. Soc. Ophthal. France 367, 1961.
78. Blervacque, A.; Constantmides, G.; Dufour, D.: **Les manifestations ophtalmologiques du Syndrome de Turner.** Bull. Soc. Ophtal. France 68/56, 589-92, 1968.
79. Algan, B.; Arnould, G.; Gilgenkrantz, S.; Marchal, H.: **Deficit fasciculaire optique central et périphérique unilatéral au cours un syndrome de Turner avec mosaïque X0/XXX.** J. Genetique Humaine. pp. 33-43, 1968.
80. Thomas, C.; Cordier, J.; Reny, A.: **Les manifestations ophtalmologiques du Syndrome de Turner.** Arch. Ophtal. 29: 565-74, 1969.
81. Franceschetti, A.: **Les gonochromosomes,** en Journal de Génétique Humaine Suppl., 15: 114-32, 1966.
82. Money, J.; Granoff, D.: **IQ and somatic atigmata of the Turner's Syndrome.** Amer. J. Ment. Defic. 70: 69-77, 1965.
83. Ridler, M.; Shapiro, A.; McKibben, W.: **Sex chromatin abnormalities in female subnormal patients.** Brit. J. Psychiat. 11: 786-92, 1964.
84. Christodorescu, D.; Collino, S.; Zellingher, R.; Tautu, C.: **Psychiatric disturbances in Turner's Syndrome.** J. Nerv. Ment. Dis. 142: 161-67, 1966.
85. Alexander, D.; Elerhardt, A.; Money, J.: **Defective figure drawing, geometric an human, in Turner's Syndrome.** J. Nerv. Ment. Dis. 142: 161-67, 1966.
86. Akesson, H.; Olanders, S.: **Frequency of negative sex chromatin among women in mental hospitals.** Human Heredity. 19: 43-47, 1969.
87. Moor, L.: **Intelligence et facteurs spécifiques dans le syndrome de Turner.** Rev. de Neuropsych. inf. 17: 545-54, 1969.
88. Kaplan, A. R.: **Association of a quantitative cytochemical variable. Barr body score with lenght of confinement in state mental hospitals.** J. Nerv. Ment. Dis. 143: 449-53, 1966.
89. Sabbath, J.; Morris, T.; Melzer, A.; Benaron, D.; Sturgis, S. H.: **Psychiatric observations in adolescents girls lacking ovarian function.** Psychosom. Med. 23: 224-31, 1961.

90. Gunnel, M.: **Neuropsychiatric disorders in sex chromatin negative women.** Brit. J. Psychiat. 112: 145-48, 1965.
91. Eibenschutz, C.; Mateo de Acosta, O.; Güell, J.; Pereira, R.; Egües, C.: **Disgenesia Gonadal.** Rev. Cub. Pediat. 39: 267-76, 1967.
92. Finby, N.; Archibald, R.: **Skeletal abnormalities associated with gonadal dysgenesis.** Am. J. Roentg., radium therapy and nuclear medicine. 89: 1.222, 1963.
93. Astley, R.: **Chromosomal abnormalities in childhood with particular reference to Turner's syndrome and mongolism.** The Brit. J. Radiol. 36: 421, 1963.
94. Meschan, J.: **Roentgen signs in clinical practice.** W. B. Sanders Company Philadelphia, London, Vol. 1, 233-36, 1966.
95. McDonough, P.; Deleo, C.: **Pelvic pneumoperitoneum in the evaluation of precocious puberty.** Obst. Gynec. 33: 856-59, 1969.
96. McDonough, et al.: **Pelvic pneumoperitoneum in intersex disorders. Asymmetrical gonadal dysgenesis.** Obst. Gynec. 37: 3, 1971.
97. Ellsworth, H. S. et al.: **The yield from pelvic endoscopy. Comparison of culdoscopy and laparoscopy.** JAMA. 215: 1.117, 1971.
98. Alter, M.: **Dermatoglyphic analysis as a diagnostic tool.** Medicine, 46: 44, 1966.
99. Forbes, A. P.: **Finger prints and palms prints (dermatoglyphics) and palmar flexion creases in gonadal dysgenesis, pseudohypoparathyroidism and Klinefelter's syndrome.** N. Eng. J. Med. 270: 1.268, 1964.
100. Holt, S.; Lindsten, J.: **Dermatoglyphic anomalies in Turner's syndrome.** Ann. Hum. Genet. 28: 87, 1964.
101. McLean et al.: **Lancet i, 293, 1962.**
102. Hecht, F. et al.: **Mosaicism in Turner's syndrome reflects the lethality of XO.** Lancet 2: 1.197-8, 1969.
103. Eller, E.; Frankenburg, W.; Puck, M.; Robinson, A.: **Prognosis in newborn infants with X-chromosomal abnormalities.** Pediatrics, 47: 681-87, 1971.
104. Willemse, C.: **A patient suffering from Turner's syndrome and acromegaly.** Acta Endocr. 39: 204, 1962.
105. Williams, R.: **Textbook of Endocrinology.** W. B. Saunders Company. pp. 553, 1968.
106. Liebert, P. S.: **Gastric duplication and multicystic kidney associated with gonadal dysgenesis.** Clin. Pediat 9/1 (60-62), 1970.
107. Fisher, M.; Haslund, J.: **Severe mental retardation in Turner's syndrome and additional mosaic with a centric chromosome fragment.** Acta Genet., Basel 18: 487-95, 1968.
108. Archibald, R. M.; Finlay, N.; De Vito, F.: **Endocrine significance of short metacarpals.** J. Clin. Endocr. Met. 19: 1.312, 1959.
109. Werft Ten Bosch, van der: **The syndrome of brady metacarpal dwarfism pseudopseudohypoparathyroidism with and without gonadal dysgenesis.** Lancet, 1: 69, 1959.
110. Baczkowski, K. et al. **Acta Path. Microb. Scand. 71: 46, 1967.**
111. Frassier, S. D. et al. **J. Pediat. 64: 740, 1964.**
112. Golberg, M. D. **J. Clin. Endocr. 27: 341, 1967.**
113. Dominguez, C. J. et al.: **Dysgerminoma of the ovary in a patient with Turner's syndrome.** Amer. J. Obst Gynec. 83: 674, 1962.
114. Barr, M. L.; Carr, D. H.: **Correlations between sex chromatin and sex chromosomes.** Acta Cytol. 6: 34-35, 1962.
115. Lyon, M. F.: **Gene action in the X chromosome of the mouse (Mus musculus L.).** Nature 190: 372-73, 1961.
116. Lyon, M. F.: **Sex-chromatin and gene action in the mammalian X-chromosome.** Am. J. Human Genet. 14: 135-48, 1962.
117. Ohno, S.: **Properties of X chromosome.** Lancet II, 723-24, 1961.
118. Ohno, S.; Kaplan, W. D. and Kinoshita, R.: **Formation of the sex chromatin by a single X-chromosome in liver cells of Rattus norvegicus.** Exptl. Cella Res. 18: 415-418, 1959.
119. Beckert, W. H. and Garner, J. G.: **Staining sex chromatin: biebich-scarlet and fast green FCF, as a mixture versus their use in sequence.** Stain Tech. 2: 41, 1966.
120. Barr, M. L.: **"Sex chromatin techniques", in Human Chromosome Methodology, Ed. by J. J. Yunis. Academic Press: New York, 1-16, 1965.**
121. Pansegrau, D. G.; Peterson, R.: **Improved staining of sex chromatin.** Am. J. of Clin. Path. 41: 266-72, 1964.

122. Baker, D.; Berdow, W.; Morishima, A. and Conte, F.: **Turner's Syndrome and pseudo-Turner's Syndrome.** Am. J. Roentgenol., Rad, Therapy & Nuclear Med. 100: 40, 1967.
123. Jones, H.; Turner, H.; Fergusson-Smith, M.: **Turner's syndrome and phenotype.** Lancet, 1.155, 1966.
124. Yunis, J. J.: **Human Chromosomes in Disease, in Human Chromosome Methodology.** Ed. by J. J. Yunis. Academic Press, New York, 195, 1965.
125. Kaplan, M.; Opitz, J.; Gosset, F.: **Noonan's syndrome.** Amer. J. Dis. Child. Vol. 116: 359, 1968.
126. Wright, N.; Summit, R.; Ainger, L.: **Noonan's syndrome and Ebstein's malformation of the tricuspid valve.** Amer. J. Dis. Child. 16, 1968.
127. Noonan, J.: **Hipertelorism with Turner phenotype.** Amer. J. Dis. Child. 116, 1968.
128. Turpin, R.; Lejeune, J.; Lourcade, J.; Chigot, P.; Salmon, C. Acad. Sci. (Par.), 252: 2.945, 1961.
129. Turner, H.; Zanartu, J.: **Ovarian dysgenesis in identical twins: discrepancy between nuclear chromatin pattern in somatic cells and in blood cells.** The J. Clin. Endocr. Met. 22: 660, 1962.
130. Patau, K.: Pathol. Biol. 2: 1.163, 1963.
131. Boyer, S. H.; Fergusson-Smith, M. A.; Grumbach, M.: **The lack of parental age and birth order in the aetiology in nuclear sex chromatin negative Turner's syndrome.** Ann. Hum. Genet. 25: 215, 1961.
132. Mikamo, K.: **Anatomic and chromosomal anomalies in spontaneous abortion.** Amer. J. Obst. Gynec., 243, 1970.
133. Butcher, R.; Fugo, N.: **Overripeness and the Mammalian Ova.** Fertility and Sterility. Vol. 18, 1967.
134. Hoffenberg, R.; Jackson, W.: **Gonadal dysgenesis in normal looking females. A genetic theory to explain variability of the syndrome.** Brit. Med. J. 1: 1.281, 1957.
135. Hoffenberg, R.; Jackson, W.: **Gonadal dysgenesis: modern concepts.** Brit. Med. J. 2: 1.457, 1957.
136. Fergusson-Smith, M. A.: **Karyotype-phenotype correlations in gonadal dysgenesis and their bearing on the pathogenesis of malformations.** J. Med. Genet. 2: 142, 1965.
137. Pearson, P. L.; Borrow, M.: **Definitive evidence for the short arm of the Y chromosome associating with the X chromosome during meiosis in the human male.** Nature 226: 959-61, 1970.
138. Lavappa, X, S.; Yerganian, G.: **Spermatogonial and meiotic chromosomes of the Armenian Hamster, Cricetus migratorius.** Exp. Cell Res. 61: 159-72, 1970.
139. Fergusson, M. A.: **X-Y chromosomal interchange in the aetiology of true hermaphroditism and of XX Klinefelter's syndrome.** Lancet, 475-76, 1966.
140. Baracat, B. et al.: **Gynecology and cytogenetic aspects of gonadal agenesis and dysgenesis.** Obst. Gynec. 36: 368, 1970.
141. Hecht, F.; Jones, D. L.; Delay, M.; Klevit, H.: **Xp-Turner's syndrome: Reconsideration of hypothesis that Xp- causes somatic features in Turner's syndrome.** J. Med. Genet. 7: 1, 1970.
142. Baughman, F.; Vander Kolk, K.; Mann, J. D.; Valdiman, A.: **Two cases of primary amenorrhea with deletion of the long arm of the X chromosome (46. XXq-).** Am. J. Obst. Gynec. 102: 1.065, 1968.
143. Hsu, L.; Hirschhorn, K.: **Genetic and clinical considerations of long arm deletion of the X chromosome.** Pediatrics 45: 656, 1970.
144. Moorhead, P. S.; Nowell, P. C.; Mellman, W. J.; Battips, D. M.; Hungerford, D.: **Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood.** Exptl. Cell Res. 20: 613-16, 1960.
145. Ferrier, P.; Ferrier, S.; Kelley, V. C.: **Sex chromosome mosaicism in disorders of sexual differentiation, incidence in various tissues.** The J. of Ped. 76: 739-44, 1970.
146. Schmid, W.: **Autoradiography of human chromosomes, in Human Chromosome Methodology.** J. Yunis. Academic Press, N. Y. and London, pp. 91-110, 1965.
147. Arrighi, F. E.; Hsu, T. C.: **Localization of heterochromatin in human chromosomes.** Cytogenetics 10: 81, 1971.
148. Yunis, E.: **Localización in situ de heterocromatina - ADN satélite en cromosomas humanas.** Rev. Fac. Med. U. N. Col., 37: 278-84, 1971.
149. Yunis, J. J.: **Human chromosomes in disease, in Human Chromosome Methodology.** Ed. by J. J. Yunis. Academic Press, N. Y. 205, 1965.