

La Crónica Médica

APARTADO 2563

LIMA - PERU

COMITE DE REDACCION

CARLOS A. BAMBAREN
Director

REDACTORES

EDMUNDO ESCOMEL — CARLOS MORALES MACEDO
LUIS D. ESPEJO — RAFAEL M. ALZAMORA — JOSE MARROQUIN
ERNESTO EGO-AGUIRRE — JORGE AVENDAÑO HUBNER
LUIS QUIROGA QUINONES — HUMBERTO PORTILLO
GUILLERMO KUON CABELLO

Universidad Nac. May. de S. Mar

Ingresado el

ABR 18 1951

BIBLIOTECA CENTRAL
Lima-Peru

Año 66.—Núm. 1034

Agosto 1949

SUMARIO

Determinación biológica de colinesterasa
por la Q. F. Srta. Ada Villanueva Novoa

Colinesterasa, pág.	113
Dosaje de la colinesterasa, pág.	124
Métodos químicos, pág.	125
Métodos biológicos, pág.	126
Dosaje biológico de colinesterasa con ileon de co- baya, pág.	127
Conclusiones, pág.	136
Bibliografía, pág.	137
Noticias.— Bicentenario de Edward Jenner, pág..	139

FOLVITE*



Acido Fólico

Lederle



*Reg. Obs. Pat. E. U. A.

En el breve período de algo más de 3 años, el ácido fólico ha tenido la más asombrosa aceptación por parte de la clase médica mundial, si se considera que anteriormente era tan sólo un "factor desconocido" del complejo vitamínico B. Tras muchos años de investigación con animales, se descu-

bró su especificidad en el esprue y demás anemias megaloblásticas.

Los médicos en todas partes usan cada día más el FOLVITE Acido fólico, en numerosos estados patológicos tales como las anemias megaloblásticas del esprue, embarazo, desnutrición, pelagra y en la infancia y niñez.

FOLVITE Acido fólico *Lederle*, se prepara en una variedad de formas a propósito para todas las aplicaciones y usos clínicos posibles, esto es: en tabletas, solución parentérica, elixir; combinado con hierro, extracto hepático y vitamina B₁₂, o agregado a fórmulas multivitamínicas.

LEDERLE LABORATORIES DIVISION *AMERICAN Cyanamid COMPANY* 30 Rockefeller Plaza, New York 20, N. Y.

Representantes y distribuidores exclusivos.

La Química Suiza S. A., Lima - Perú

Universidad del Perú, P. O. Box 1000, Lima

CATEDRA DE FARMACOLOGIA DE LA FACULTAD
DE FARMACIA DE LIMA
Profesor Dr. Carlos A. Bambarén



Determinación biológica de colinesterasa

Por la Q. F. Srtā. ADA VILLANUEVA NOVOA

El estudio de la Colinesterasa es apasionante por la forma como aclara muchos procesos fisiológicos, por la luz que proyecta sobre la etiopatogénia de varios procesos morbosos y por la influencia que ejerce sobre la actividad farmacológica de muchas drogas.

Sin embargo, la enzima del exitante químico de la actividad nerviosa no está aún completamente estudiada, porque hasta hace poco no se había obtenido completamente pura. Solo a principios de 1947 **Nachmansohn** informó haberla obtenido en un alto grado de pureza, lo que significa una nueva etapa en el estudio de este fermento.

De los métodos de dosaje aplicables a la Colinesterasa unos son muy laboriosos y otros poco sensibles; el ideado por **M. Balaguer**, de Rosario (Argentina), utilizando ileon de cobayo como "test", es relativamente rápido y muy sensible, por lo cual lo estudio detenidamente, aplicándolo en la determinación de Colinesterasa del suero sanguíneo.

El trabajo —sin intentar enjuiciar todas fluctuaciones del fermento en diferentes estados patológicos— se desarrolla en las siguientes partes: En la primera, estudio la Colinesterasa fermento, atenuante de la acción colinérgica de la Acetilcolina; en la segunda parte enumero los principales métodos de dosaje de la Colinesterasa, principalmente el de **M. Balaguer**, de Rosario (Argentina), y en la tercera, el conjunto de experiencias que he llevado a cabo para comprobar su exactitud. A modo de resumen formulo algunas conclusiones reacionadas con los aspectos tratados únicamente en este trabajo, sugerido por el Dr. **Carlos A. Bambarén**, catedrático de Farmacología, quien atento a las modernas orientaciones de la docencia y contando con abundante y selecta bibliografía, procura que aumente el prestigio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, que su cátedra se prepare para futuros ensayos de investigación y que se forme una pléyade de trabajadores intelectuales, que no solo com-

prueben verdades conocidas, sino que penetren, poco a poco, en el campo inexplorado del saber aún ignorado. Le presento mi gratitud por sus consejos y apoyo, lo mismo que al Q. F. Sr. **Antonio Muñoz Armestar**, por haberme brindado el laboratorio de investigaciones farmacológicas del "Instituto Sanitas Sociedad Peruana", donde llevé a cabo la parte experimental.

COLINESTERASA

La Colinesterasa es el único fermento propio del organismo animal; la existencia de esta enzima fué sugerida primero por **Dale** (1914) y establecida por **Loewi y Navratil** (1926); desde entonces ha sido confirmada por muchos investigadores.

Se encuentra en la sangre y los tejidos; su presencia en el tejido muscular y nervioso la demostró últimamente **Nachmansohn** (37), encontrándola en todo el reino animal, aún en la cabeza de la tubularia, hidrözoo celentereado, que es la forma animal más simple que posee tejido neuro-muscular.

La Colinesterasa es una hidrolasa de tipo de las esterásas a la que se le puede aplicar todas las propiedades generales de los fermentos (15); es una enzima no figurada; actúa en determinadas condiciones de pH y temperatura del medio, siendo destruida por el calor a 56° y por los rayos ultravioletas; soluble en el agua, es electrolito coloidal, gozando de las propiedades de éstos; actúa sobre una determinada cantidad de sustrato y su actividad se debilita progresivamente.

Su acción es específica sobre la Acetilcolina. desdoblándola por hidrólisis en Colina y Acido acético. **Nachmansohn** en colaboración con **Kurt** (1947) indica que el peso molecular de la enzima está muy cerca de 30 millones y su cifra de hidrólisis es aproximadamente de 20 millones por minuto. (32).

La Colinesterasa parece existir en los tejidos, especialmente cuando la Acetilcolina es liberada por los impulsos nerviosos (37). La acción del fermento es rápida y por esto el efecto de la Acetilcolina liberada, por los impulsos nerviosos, es de breve duración. Existe en los tejidos en concentración suficientemente grande, como para destruir la Acetilcolina liberada dentro del período refractario, como lo demuestran los interesantes trabajos de **Nachmansohn** y **Marnay**. En los músculos la concentración de Colinesterasa es varios miles de veces más grande en las placas motoras terminales, que en las fibras musculares, y el poder esterásico de los músculos varía directamente. **Marnay** y **Nachmansohn** (1937, 1939) han calculado que 0.000002 microgramos u 8×10^9 moléculas de Acetilcolina pueden ser descompuestas en cinco milésimas de segundo por el fermento existente en una sola terminación nerviosa motora del músculo sartorio de la rana, y llegaron a la conclusión que la cantidad que puede estimular el músculo puede ser fácilmente descompuesto durante el período refractario. En los

músculos del conejillo de indias, se obtuvieron resultados similares. **Naschmansohn** (33) también investigó en pollos y en mamíferos (ratones y conejos), encontrando que la abundancia relativa, del músculo del embrión en Colinesterasa, está en relación con la plenitud de los elementos nerviosos y la evolución de las placas terminales en este tejido. (33). Existe, también, una notable relación entre la cantidad de Acetilcolina que puede ser descómpuesta por la Colinesterasa durante el período refractario de los órganos efectores y la cantidad liberada por un choque máximo; por ejemplo, la concentración de la enzima en los ganglios autónomos (cervical superior), se calcula que es capaz de hidrolizar 2×12 moléculas de Acetilcolina en una milésima de segundo, o sea más que suficiente para destruir dentro del período refractario del ganglio la Acetilcolina que puede ser liberada por un máximo estímulo preganglionar y capaz de producir una descarga postganglionar.

La Colinesterasa es mucho más abundante en la sustancia gris del sistema nervioso central, que en la blanca. Esto se debe a la presencia de células y sinápsis en la sustancia gris. Aunque el poder esterásico varía según las especies y en las distintas partes del eje cerebro-espinal, **Nachmansohn** (33) encontró que era bastante constante para cada región en cada especie; también observó que el tiempo de aparición de gran concentración de esterasa en el sistema nervioso embrionario concuerda con el tiempo de aparición de la función sináptica. **Nachmansohn** sugiere que la Colinesterasa puede desempeñar en la transmisión sináptica central, la misma función que periféricamente cumple en los ganglios y uniones neuromusculares, esto es, la rápida descómposición durante el período refractario de la Acetilcolina liberada. En investigaciones posteriores, (1945) ha probado la estrecha relación que existe entre los cambios eléctricos durante la actividad del nervio y la actividad de los esteres de Colina y afirma que la enzima se concentra en la superficie del nervio o sea en la vaina mielínica, en mayor cantidad que en el exoplasma, donde la cantidad es reducidísima, relacionándola con el fenómeno bioeléctrico que es fenómeno de superficie (36).

Todas aquellas sustancias que inhiben la acción enzimática del fenómeno, también destruyen la conducción en el nervio y en el músculo (37).

Aparece, pues, evidente que la actividad de la Colinesterasa está asociada inseparablemente con la conducción de la impulsión néurica, en el nervio y fibras musculares. **Nachmansohn** (36) contra la teoría de **Otto Loewl** y **Dale**, sostiene que la Acetilcolina no es sustancia específicamente activa de la transmisión del impulso nervioso en la terminación del nervio, aunque esté intrínsecamente conectada con los cambios eléctricos ocurridos en la superficie de las neuronas, durante la actividad nerviosa.



Es indiscutible la importancia de la enzima en el funcionamiento del nervio y del músculo.

Sustancias inhibidoras de la Colinesterasa.— Entre las sustancias que paralizan la actividad de la Colinesterasa se mencionan las siguientes: los alcalóides del haba del calabar: fisostigmina o eserina, miotina, prostigmina, que administradas en reducida concentración aumentan, correlativamente, el efecto farmacológico de los esteres de Colina, siendo esta la base de sus efectos parasimpático-miméticos. La acción de la Fisostigmina sobre la Colinesterasa no es de destrucción, sino meramente de inactivación temporal, por ser dicho compuesto un éster que se combina con la enzima y la hidroliza lentamente.

Desde los trabajos de **Hawkins** se sabe que la Colinesterasa de los invertebrados inferiores ('Planaria y rana') es relativamente resistente a la Eserina, necesiéndose mayores concentraciones que las conocidas, para que pueda inhibir la actividad de la enzima (17).

Otra sustancia estudiada últimamente es el isopropil-fluorofosfato que inhibe la acción del fermento del suero, glóbulos rojos, músculos y cerebro del conejo, mono y hombre, ya en inyección intravenosa o por respiración de los vapores (23).

Los aminoalcoholes fenantrénicos en concentraciones del orden de $10^{-7}M$ son efectivos inhibidores de la Colinesterasa del plasma humano. La inhibición de la enzima está relacionada con el peso del grupo dialquilamínico, llegando a un máximo en los derivados del dipropilamino en cada una de las cuatro series homólogas. La inhibición es decreciente por hidrogenación, cloruración o hidroxilación de los núcleos fenantrénicos; por reemplazo del grupo hidroxilo alcohólico, o por transposición del alquil-amino de la cadena de la posición 9 a la 3 o 2. Se necesitaron concentraciones mayores del orden $10^{-5}M$, para inhibir la Colinesterasa de los glóbulos rojos humanos; separándose de esta manera las dos clases de actividad. Las de naturaleza química, que incrementan la inhibición de la enzima en el plasma y decrecen la inhibición de la enzima de los glóbulos rojos. Ni la actividad antimalaria en el pollo, ni la dosis tolerada por el pollo fué correlativa con la inhibición de la Colinesterasa por los aminoalcoholes fenantrénicos (40).

Esta enzima la inactiva la diálisis, reapareciendo su actividad cuando se agrega pequeñas cantidades de dialy sal, glutatión, cistina, glicina, ácido cianhídrico y aldóxima.

También inhiben la Colinesterasa el Yodo y Acido maléico, siendo irreversible, la producida por el Glutatión, porque el grupo SH posiblemente interviene en el sistema enzimático de la Colinesterasa (35).

La acción de los anestésicos generales sobre la actividad de la Colinesterasa y su repercusión en el fenómeno parasimpático la estudiaron varios investigadores, pero no hay acuerdo

entre sus resultados. **Miquel** en 1946, (30) llevó a cabo un intento para esclarecer el problema demostrando que el Eter y el Cloroformo no inhibe la Colinesterasa *in vivo*, mientras que *in vitro* su acción es distinta según su concentración; cuando ésta es considerable paraliza la acción del fermento, mientras que en concentraciones menores no la alteran. Estas observaciones soportan la hipótesis que los efectos parasimpáticos observados durante la anestesia general del Eter y Cloroformo no son debidos a la inhibición de la Colinesterasa.

Se ha probado, igualmente, que todas las sustancias que inhiben la acción enzimática del fermento, también destruyen la conducción en el nervio y en el músculo (37).

Por último, hay sustancias que aumentan la acción de la Colinesterasa como el Cloruro de sodio y Bicarbonato de sodio, porque facilitan la hidrólisis de la Acetilcolina (29).

Colinesterasa en estados patológicos.— Se ha investigado la correlación entre concentración de Colinesterasa en el suero sanguíneo y varios estados patológicos, especialmente, con las distrofias de los músculos estriados. Hasta ahora no ha podido determinarse enfermedad que aumente la concentración de Colinesterasa en el suero, siendo el único medio conocido para alterar *in vivo* la actividad de esta enzima, administrar medicamentos, especialmente, Fisostigmina y especies químicas afines.

Sin embargo, **Verebely** (38) ha observado disminución de Colinesterasa en sangre después de hemorragias y **Antopol, Tuchman** y **Chifrin** comprobaron que disminuye dicho fermento en cirrosis hepática, hepatitis, anemia y poliartritis, y que aumenta en el hipertiroidismo y diabetes grave, no tratadas (3).

Villasante (1942) hizo determinaciones de Colinesterasa por método manométrico en sangre de personas normales y alérgicas (asmáticos y jaquecosos) y en sangre de conejos sanos y distróficos.

Según **Zeller** (41), tanto la Acetilcolina como la Colinesterasa están en estrecha dependencia con la función sexual. En perros tratados con Estrona asciende la Colina en el útero desde 0 hasta 0.4 mgs. %, y frente a esa inundación de Acetilcolina reacciona el organismo, aumentando su contenido en Colinesterasa en el hígado. Si se castra a un rata hembra, disminuye la Colinesterasa, y cuando a ese animal se administra Estradiol aumenta, alcanzando los límites normales o en mayor cantidad.

En el embarazo, donde la formación de Foliculina es grande, aumenta la cifra de Acetilcolina y de Colinesterasa y desciende después del parto.

En el climaterio la Colinesterasa es activa y la Acetilcolina disminuye frente al déficit de hormona folicular, apareciendo trastornos circulatorios que desaparecen, con la administración de Acetilcolina o de Estrona (3).

Clases de Colinesterasa.— En los últimos años se ha estudiado la diferente actividad enzimática relativa de la Colinesterasa, señalándose que hay dos distintas, cuyos nombres no están bien definidos por no haber acuerdo entre los investigadores; **Mendel** y **Rudney** llaman a) Colinesterasa específica o verdadera, b) Colinesterasa no especificada o pseudo Colinesterasa. **Alles** y **Hawes**, Colinesterasa del suero a una y Colinesterasa de los glóbulos rojos a la otra. Desde este punto de vista existe una controversia entre dichos autores. Los hechos son como siguen:

Alles y **Hawes** en 1940 (1) fueron los primeros en señalar por experimentos sobre la sangre humana, que aparentemente existen dos enzimas distintas, que son capaces de hidrolizar la Acetilcolina; esta conclusión fué reiterada por **Hawes** y **Alles** (16) quienes encontraron que el suero contiene solamente una débil hidrólisis enzimática de la Acetil-B-metilcolina, las células producen una escisión enzimática en un grado que es del mismo orden que el de la Acetilcolina.

Mendel y **Rudney** (24) afirman que una enzima no específica, a la que llaman pseudo-colinesterasa, se encontraba en el suero y ciertos tejidos y otra específica se halla en el tejido cerebral y en los glóbulos rojos; esta última solo poseía actividad demostrable sobre la Acetilcolina.

En una comunicación posterior **Mendel**, **Mundel** y **Rudney** (25) informan que la Acetil-B-metilcolina era hidrolizada por la verdadera y la benzoilcolina por la pseudocolinesterasa.

Existe, pues, una controversia respecto a la nomenclatura de las dos clases de actividad enzimática. (26,20, 27, 2).

Mendel y **Rudney** en 1944 (28) dan una relación general de la materia e indican el resultado de sus investigaciones sobre soluciones muy purificadas de la enzima que aclaran las dudas de la existencia de dos Colinesterasas.

Se puede afirmar por lo tanto que existe dos tipos de enzimas una **específica** y otra **no específica**. La específica o Colinesterasa verdadera, hidroliza exclusivamente los ésteres de la Colina y la no específica o pseudo colinesterasa, capaz de hidrolizar una variedad de ésteres, inclusive los de la Colina. Estos experimentos mostraron las intrínsecas, específicas y características propiedades de las dos colinesterasas en el reino animal. Al mismo tiempo se descubrió otra diferencia entre las dos enzimas, la colinesterasa verdadera en contraste a la no específica despliega mayor actividad a escasa que a gran concentración de Acetilcolina. Esta peculiaridad de la enzima específica, tan notable en los mamíferos, se encuentra en toda la escala animal y no es raro encontrarla en primitivas formas de la vida, como en la Planaria. Decece su actividad con la elevación de la concentración del substrato, por lo que podría considerarse como una propiedad inherente de la enzima específica.

Recientemente se ha encontrado que la curva de actividad del substrato de la Colinesterasa verdadera, en relación

con la concentración, puede cambiarse a voluntad y aún invertirse por adición a la solución de la enzima de ciertos coloides orgánicos, capaces de cambiar la carga eléctrica de la micelas de la enzima; hecho que puede tener alguna influencia sobre la teoría de la transmisión del impulso nervioso. Las protaminas, por ejemplo, que llevan una carga eléctrica, son capaces de cambiar la actividad de la Colinesterasa verdadera en el cerebro de los mamíferos, lo que explica que la enzima se asemeje ahora a la pseudo-colinesterasa, mostrando una unión de actividad cuando hay aumento de la concentración del substrato. La adición subsecuente de cargas negativas coloidales, por ejemplo, goma acacia, protamina, restablece la actividad del substrato concentrado.

El cambio de actividad por la adición de protaminas, en ningún modo afecta la propiedad fundamental de la enzima, su especificidad hacia los ésteres de la Colina. Esto demuestra que la actividad del substrato, es una característica secundaria determinada por su medio ambiente físico, mientras la especificidad invariable de la enzima independiente de las condiciones del medio ambiente, es una propiedad inherente de la Colinesterasa verdadera, la cual necesita mayor concentración de inhibidores para ser inhibida (40).

Todo esto sostiene el criterio de especificidad para la clasificación de la Colinesterasa.

Pero hay la posibilidad como dice **Glick** (12) que la especificidad observada para las Colinesterasas puede aún no depender de la enzima misma, sino de otros factores o sustancias concomitantes asociadas a la enzima, pero si existe es **Alles** y **Hawes** quienes primero lo descubrieron en 1940, por su diferente especificidad hacia la Acetil-B-metilcolina y **Mendel** y **Rudney** quienes la estudiaron y extendieron considerablemente.

Obtención y purificación de la enzima. — **Nachmansohn** ha perfeccionado un método para la obtención y purificación de la enzima (32) por precipitación fraccionada del sulfato de amonio, de extractos del órgano eléctrico del **Electroforus Electricus** (Anguila eléctrica).

Se han escogido los tejidos de este animal porque desdoblán por hora tanta Acetilcolina equivalente de 1 a 3 veces su propio peso. Esta concentración extraordinariamente alta de la enzima, es particularmente interesante, en vista de su escaso contenido en proteínas (2%) y gran cantidad de agua (92%). Es raro encontrar un material que ofrezca tantas ventajas, así como una fuente tan favorable para la purificación de la enzima. Se encontró en 1938 que la Colinesterasa puede extraerse fácilmente de estos órganos y obtenerse en solución libre de células por homogenización y centrifugación.

DOSAJE DE LA COLINESTERASA

No hay método de dosaje directo de la Colinesterasa. Todos los propuestos son indirectos, basados en su acción desdoblante sobre la Acetilcolina:

Colinesterasa + Acetilcolina = Colina + Acido acético.

Se usa una dosis, previamente conocida, de Acetilcolina, mayor que la que podría desdoblar la Colinesterasa, se la deja en contacto con el suero o tejido que contiene el fermento por determinar y la Acetilcolina residual, no desdoblada, se valora por método químico o biológico. La diferencia entre las dos cantidades, proporcionará los datos necesarios para indicar la Colinesterasa existente.

Los métodos de dosaje de la Colinesterasa, pueden dividirse en químicos y biológicos.

Método químico: Variaciones del pH., Manométrico, Colorimétrico, Acido fosfotúngstico.

Método biológico: Emplendo corazón de rana, músculo de sanguijuela, gastrocnemio denervado de gato, descenso de la tensión arterial en perros, útero de Cobaya, recto anterior de rana, intestino de conejo o cobaya, aurícula de conejo e intestino de ratón.

MÉTODOS QUÍMICOS

Variaciones del pH.— Este método de **Stedman Stedman y White**, se funda en que al desdoblar la Acetilcolina deja Acido acético en libertad el que acidifica el medio, cuyo pH se conoce de antemano; las nuevas variaciones del pH, equivalente al Acido acético liberado, se leen en un indicador con el que se determina la Acetilcolina desdoblada.

Método manométrico.— **Marnay y Nachmansohn** han probado que el Acido acético al acidificar el medio, descompone al Bicarbonato de sodio agregado previamente, dejando libre el CO₂ que se dosifica enseguida.

En un depósito con una cantidad de solución de Ringer y una sustancia tampón que lleva CO₃ HNa, se agrega una dosis conocida de Acetilcolina (0.2 a 0.6 mg.) y se adiciona el tejido o líquido biológico por estudiar. Se lleva a un termostato a 33° y al cabo de 1/2 hora o 2 horas se mide el anhídrido carbónico desprendido, cuya cantidad sirve para determinar la velocidad de la hidrólisis.

Este método lo usan actualmente **Mortimer, Rothemberg y Nachmansohn** (32), para determinar la cantidad de Colinesterasa en su técnica de purificación del fermento.

Método colorimétrico.— En este método preconizado por **Engel** (11), basado en la técnica de **Beattie**, se precipita la Colina, como Reinekato de Colina, con la sal de Reineke (diami-

notetra-sulfocian-cromato de amonio), cuyas soluciones acetónicas tienen una hermosa coloración rosada, que se mide en el colorímetro foto-eléctrico.

Basándose en el método de **Beattie** y aplicando la reacción de **Cazeneuve**, por valoración colorimétrica del Cromo del precipitado, **Marenzi** y **Cardini** establecieron un nuevo método que valora hasta 15 gammas de Colina.

Dosaje con ácido fosfotúngstico. — **Lanati, Kahane y Kahane**, precipitan la Acetilcolina con Tungstato de acetilcolina, dosando el Acido fosfotúngstico combinado, determinan por cálculo la cantidad de Acetilcolina, teniendo presente que 1 grm. de Tungstato de Acetilcolina es igual a 0.169 grm. de cloruro de acetilcolina.

METODOS BIOLOGICOS

Métodos del corazón de rana. — **Dale** usó el corazón de rana para encontrar las más pequeña cantidad de Acetilcolina que disminuye la amplitud del latido cardíaco.

Es método laborioso; el corazón detiene sus latidos con dosis pequeñas de Acetilcolina, lo que obliga muchas veces a preparar nueva experiencia; es poco sensible en comparación a otros métodos (1×10^{-5}); abundan las causas de error por la técnica muy laboriosa; el Potasio, los ácidos y el factor R, actúan modificando la sensibilidad de la reacción que produce en el corazón de rana la Acetilcolina.

Método del músculo de sanguijuela. — **Minz** idea este proceso de dosificación que es muy sensible (2×10^{-8}), como se observa por la tabla confeccionada por **Gadum**.

Método del gastrocnemio denervado de gatō. — El menos sensible de los métodos biológicos (1×10^{-5}), siendo muy laborioso.

Método del descenso de la tensión arterial del perro. — Tiene muy poca sensibilidad y numerosas causas de error.

Método del útero de cobaya. — Ensayado por **Feldberg** y **Balaguer** (4 y 5) es método lento, pues, emplea de 5 a 15 minutos para que se relaje el músculo uterino.

Método del recto anterior de rana. — **Scheiner** demostró que el recto abdominal de la rana, se contrae en proporción a la dosis de Acetilcolina y la velocidad de descontracción es proporcional a la cantidad de Colinesterasa del tejido o suero existente en el baño. Se compara el resultado con suero normal de caballo, no olvidando que tiene escasa sensibilidad (1×10^{-6}), y que pausas demasiado largas para provocar la relajación (a veces hasta de una hora), dificultan apreciar en forma precisa el punto medio de la descontracción y que el Potasio actúa favoreciendo la contracción.

Método del ileón de cobayō. — **F. Berheln** y **M. Berheln** emplean la velocidad de descontracción del ileón de cobaya, pa-



ra dosar la Colinesterasa del suero o tejido, agregada al baño que lleva una dosis de Acetilcolina, que ha producido una contracción máxima. He comprobado que una dosis grande de Acetilcolina provoca contracción, seguida de inmediata relajación. Y como la altura de contracción es fija, para cantidades iguales de Acetilcolina y en igualdad de condiciones y la relajación es rápida, **M. Balaguer** ha utilizado estos factores como base para confeccionar el método que estudio posteriormente.

Método del intestino de conejo.— **Galehr** y **Platner** usan el Acido tricloro-acético para precipitar la solución que lleva el suero o extracto de tejido, la solución de Tyrode y la Acetilcolina; filtran, diluyen con solución de Tyrode y así puede durar varios días. Como no es constante ni la Acetilcolina por destruir, ni el tiempo, temperatura, dilución, cantidad total de líquido, etc., no se establece la curva de actividad. Su sensibilidad es al 1×10^{-8} con un error del 10%.

DOSAJE BIOLÓGICO DE LA COLINESTERASA CON ILEON DE COBAYA

M. Balaguer ha ideado la técnica siguiente para dosar la Colinesterasa en líquidos y tejidos, basándose en la fijeza de la altura de la contracción del ileon de cobaya, a dosis submáximas de Acetilcolina. Su sencillez, rapidez y exactitud ha hecho que lo adopte. He seguido las indicaciones del método, para comparar resultados.

Dispositivo.— Un termostato que consta de: a) baño maría, b) Recipiente de ensayo, c) Termómetro, d) Burbujeador de oxígeno, e) Serpentina, f) Aparato inscriptor.

Baño maría.— Es un recipiente metálico que lleva agua calentada a 38° por medio de un mechero de gas regulado. (Para evitar pérdida del calor por irradiación, el recipiente se cubre exteriormente con un fieltro de 1 cc. de espesor).

Recipiente de ensayos.— Son cilindros de vidrio, aforado de 100 cc. de capacidad, que por su extremidad inferior finalizan en un tubo delgado y mediante un interruptor puede desaguar su contenido; por su parte superior, amplia, recibe las drogas que se desea ensayar y el líquido de Ringer que se llena hasta el aforo. Mantiene constantemente su temperatura a 38° por estar en el baño de maría.

Termómetro.— Indica la temperatura del baño maría.

Burbujeador de oxígeno.— Es un tubo de vidrio que está en comunicación con un balón de oxígeno, cuyo final va sumergido en el interior de los recipientes de ensayo, y a la vez sirve de sostén a un extremo del intestino.

Serpentina.— Es un tubo de vidrio doblado en espiral que va en el interior del baño, rodeando a los recipientes de ensayo. Por un extremo recibe el Ringer a una temperatura de 38° o menos y al llegar al interior del baño se calienta a la temperatura

deseada; por el otro extremo termina en un tubo de goma con su interruptor y punta de vidrio; por aquí se vierte el Ringer a los recipientes.

Aparato Inscriptor.— Consta de una palanca, uno de cuyos brazos lleva pendiente de un hilo de seda el trozo de intestino.

Un inscriptor frontal marca las variaciones de la contracción en el cilindro inscriptor que lleva rayas horizontales paralelas separadas entré sí por 1 cm. Dicho cilindro gira a 50 cm. por hora.

Preparación del intestino de cobaya.— Muerto el animal adulto, con un golpe en la base de la cabeza, se abre el vientre, apareciendo inmediatamente la última porción del intestino delgado de 10 cm. más o menos, que desemboca en el intestino grueso, al que va unido por un meso a manera de caño de fusil. De esta porción, por ser la más sensible a la Acetilcolina, se corta 5 cm. de largo y se lava convenientemente con el líquido de Ringer y se coloca en los soportes ya indicados; quedando de esta manera sumergido en el Ringer del recipiente de ensayo. Se deja reposar unos instantes para que se regularice el tono y se inician las experiencias rechazándose las primeras por ser de resultados muy irregulares.

Soluciones utilizadas.— Se usó el Ringer-Tyrode de pH 8, tal como indica el autor de método, preparándose de la siguiente manera:

Solución No. 1

Cloruro de sodio	80	gram.
" " potasio	2	"
" " calcio	2	"
" " magnesio	1	"
Agua destilada c/s	1000	"

Solución No. 2

Fosfato bisódico	0.5	gram.
Agua destilada c/s	100	"

En el momento de efectuar la experiencia se mezcla:

Solución No. 1	100	cc.
Solución No. 2	10	"
Glucosa	1	gram.
Bicarbonato de sodio	1	"
Agua destilada c/s	1000	cc.

Factores que no deben variar.— Con el fin de obtener siempre datos concordantes, hay que observar las siguientes constantes del método:

Temperatura.— Como es un método biológico, realizado en mamíferos, la temperatura no debe variar de 38°.

Solución de Ringer.— Debe ser la que se indica anteriormente y no debe modificarse.

Oxígeno.— El continuo burbujeo de oxígeno en el Ringer asegura la constante sensibilidad del ileon. Podría también usarse aire, pues en mis experiencias, comparando los dos factores he obtenido resultados semejantes.

Trozo de intestino.— Debe ser el comprendido de los últimos 10 cm. de ileon, del que se corta un trozo de 5 cm. de longitud.

Dosis útiles de Acetilcolina.— Esta dosis debe ser 5 gammas en el baño de 100 cc. (sensibilidad del método 1×10^{-8}) y la mitad la dosis de destrucción (2.5 gammas).

Preparación del suero sanguíneo.— El suero se obtiene por coagulación, separándose el suero por centrifugación. Se diluye de la siguiente manera: En una serie de tubos de ensayo se coloca 1 cc. de Ringer, al primer tubo se le agrega 1 cc. de suero por titular (dilución al $1/2$), de este se toma 1 cc. y se vierte en el segundo tubo (dilución al $1/4$), nuevamente se toma de este segundo tubo 1 cc. y se recibe en el 3er. tubo (dilución al $1/8$) y así sucesivamente, hasta el último tubo del que se toma 1 cc. para el ensayo.

El factor **dilución** es el único **factor variable**. El **volumen** de suero diluido para el ensayo **es constante 1 cc.** así como el tiempo de **contacto** de la Acetilcolina con la Colinesterasa **2 minutos** con un error de manipulación de $2/120$ o sea 1.85 %.

Tejidos.— Para el dosaje de Colinesterasa en tejidos, las constantes antedichas son las mismas, siendo en este caso constante la cantidad total de tejido, tomándose siempre 1 gm. de papilla preparada de antemano (en la que hay $1/2$ gm. de tejido) se coloca en 1 cc. de Ringer, a 38° grados. Se le adiciona la cantidad **x** de Acetilcolina, dosándose cada 15 segundos (**tiempo variable**) siendo el tejido tanto más activo cuando en igualdad de condiciones: concentración y volumen destruya, en menor tiempo, la dosis $x/2$ partiendo de la dosis **x**. No he realizado este ensayo.

Dosaje propiamente dicho.— Una vez conocidas las constantes, se procede a buscar la contracción máxima con una dosis mínima de Acetilcolina, para lo cual se provocan contracciones y descontracciones con dosis crecientes y decrecientes de Acetilcolina, hasta encontrar una dosis (dosis **x**), que repetida varias veces dé una altura útil, es decir, próxima a la máxima, luego es necesario tomar una dosis equivalente a la mitad (dosis $x/2$) y repetir los ensayos con la dosis **x** y $x/2$ varias veces y comprobar si la altura de la contracción, con ambas dosis, es siempre la misma.

Una variación hasta de un 10 % en la altura, puede considerarse como utilizable; en cambio, un intestino con variaciones más grandes no es práctico para estos ensayos.



ANTI-HISTAMINICO de SINTESIS

NEO-ANTERGAN

Lo que es oportuno saber del:

NEO-ANTERGAN

2786 Rhone-Poulenc.

N-dimetil-amino-etil-N-para-metoxi-bencil-amino-piridina.

PROPIEDADES :

Antihistamínico de síntesis más activo y mejor tolerado que el Antergan.

INDICACIONES :

a) **indicaciones principales:**

Enfermedad sérica, urticaria, edema de Quinke, prurigo, estrófulo, pruritos, dermatitis artificiales, accidentes cutáneos debidos a la quimioterapia y a la penicilinoterapia, accidentes causados por venenos animales, shock anafiláctico, fiebre de heno, corizas espasmódicas, asma alérgico, conjuntivitis alérgicas.

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

b) indicaciones secundarias:

Jaquecas, colitis, colecistitis, gastritis, ulcus gastroduodenales, diferentes formas clínicas del asma en las cuales es difícil diagnosticar una etiología anafiláctica, sabañones, trastornos cardio-vasculares de origen alérgico, zona, tos ferina (coqueluche), enfermedad de rayos, dismenorreas, psicosis, prevención del shock después de la colapsoterapia en los tuberculosos, gota, algias cérvico-braquiales, fiebre biliosa hemoglobinúrica.

PRESENTACION Y POSOLOGIA:

Grageas dosificadas a 0 g. 08 (tubo de 50)

Grageas dosificadas a 0 g. 04 (tubo de 50)

En el adulto: 4 a 6 grageas de 0 g. 08 por día mientras duren los trastornos.

En el niño:

de 1 a 4 años: 2 a 4 grageas de 0 g. 04)

de 4 a 10 años: 4 a 8 grageas de 0 g. 04) por día

de 10 a 15 años: 4 a 6 grageas de 0 g. 08)

Hacer siempre tomar las grageas **ingiriéndolas enteras durante las comidas** y con bebidas abundantes muy azucaradas.

La falta de acumulación y la baja toxicidad permite un tratamiento prolongado en casos de necesidad.

INCIDENTES:

Algunas veces náuseas, vértigos que con la administración de azúcar disminuyen o desaparecen, somnolencia que la efedrina y el sulfato de fenil-amino-propano atenúan.

DISTRIBUIDORES PARA EL PERU:



Avenida Wilson 1550 -- Lima -- Apartado 3118

Universidad del Perú. Decana de América

Una vez obtenida la contracción máxima con la dosis x y $x/2$, se procede al dosaje de la Colinesterasa del suero sanguíneo. Se toma el centímetro del primer tubo (dilución al $1/2$) y se le agrega la dosis x de Acetilcolina, en este caso 5 gammas, se deja en contacto 2 minutos (constante) y enseguida se vierte al tubo de ensayo para su dosaje. De la misma manera se hace con los demás tubos de dilución al $1/4$ al $1/8$ al $1/16$, etc., obteniéndose de esta manera diferentes alturas correspondientes a la Acetilcolina no destruida y que sirven para calcular los resultados, en comparación con las alturas obtenidas con la dosis de 5 gammas (dosis x) y de 2.5 gammas (dosis $x/2$).

La sensibilidad del intestino puede durar hasta más de 3 horas.

Factores que dan mayor exactitud al método.— Con el fin de obtener una mayor altura de contracción, con dosis submáximas de Acetilcolina y en este caso con la dosis de 5 gammas, cuya altura debe ser no menor de 5 cm., hay que tener en cuenta dos factores, no indicados en la técnica.

1º—La longitud de la palanca de inscripción.

2º—La manera de sensibilizar el intestino.

1º— **Longitud del estilete inscriptor.**— Como la contracción se trasmite a la palanca de inscripción y se marca en el tambor, ésta altura puede aumentarse o disminuirse, aumentando o disminuyendo el brazo respectivo de dicha palanca, de acuerdo con la relación siguiente:

$$m' = \frac{m \cdot b}{a}$$

en donde m' = altura de la contracción marcada en el tambor.

m = tenor de la contracción del intestino transmitida al brazo de palanca a .

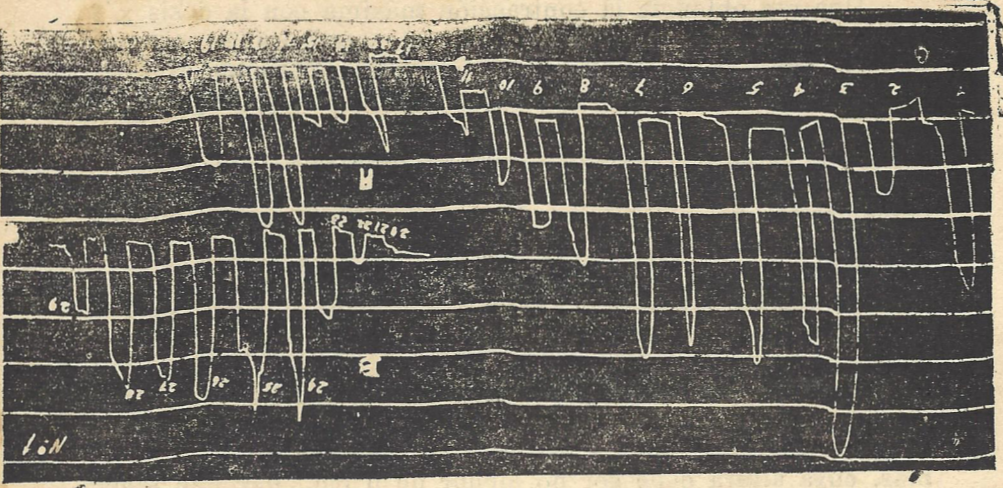
b = brazo de palanca que lleva el estilete de inscripción.

a = brazo de palanca del que pende el intestino.

La altura de contracción m' es función de la longitud de los brazos de palanca y está en razón directa al brazo b y en razón inversa al brazo a , por lo que, a mayor brazo b mayor altura de contracción.

Siendo m' una variable, con el fin de obtener siempre resultados semejantes, es necesario fijar la longitud de la palanca de inscripción. En mis experiencias he obtenido buen resultado con una palanca cuyos brazos guardaban la relación de **1 a 6**.

2º— **Manera de sensibilizar el intestino.**— Para obtener una altura no menor de 5 cm. con la dosis de 5 gammas de Acetilcolina, es conveniente comenzar a sensibilizar con dosis mayores de 10 gammas, porque si se inician los ensayos con dosis menores de 10 gammas, se obtendrá una altura menor de 5 cm.



**Dosaje de Colinesterasa con ileon de cobaya.— Tiempo de contracción
15 segundos.**

No. 1	Solución Acetilc.	0.1	cc.			
" 2	"	"	0.05	"			
" 3	"	"	0.5	"			
" 4	"	"	0.4	"			
" 5	"	"	0.3	"			
" 6	"	"	0.2	"			
" 7	"	"	0.2	"			
" 8	"	"	0.1	"			
" 9	"	"	0.075	"			
" 10	"	"	0.05	"			
" 11a	"	"	0.04	"			
" 11b	"	"	0.1	+ 1 cc. suero humano	1/2	+ 2 minutos.	
" 12	"	"	0.1	+ 1 cc. "	"	1/4	+ 2 "
" 13	"	"	0.5	(testigo)			
" 14	"	"	0.1	+ 1 cc. suero humano	1/8	+ 2	"
" 15	"	"	0.1	+ 1 cc. "	"	1/16	+ 2 "
" 16	"	"	0.1	+ 1 cc. "	"	1/32	+ 2 "
" 17	"	"	0.1	(testigo)			
" 18	"	"	0.5	(testigo)			
" 20	"	"	0.1	+ 1 cc. suero humano	B 1/2	+ 2	"
" 21	"	"	0.1	+ 1 cc. "	"	1/4	+ 2 "
" 22	"	"	0.1	+ 1 cc. "	"	1/8	+ 2 "
" 23	"	"	0.1	+ 1 cc. "	"	1/16	+ 2 "
" 24	"	"	0.1	+ 1 cc. "	"	1/32	+ 2 "
" 25	"	"	0.1	+ 1 cc. "	"	1/32	+ 2 "
" 26	"	"	0.1	(testigo)			
" 27	"	"	0.1	(testigo)			
" 28	"	"	0.1	(testigo)			
" 29	"	"	0.5	(testigo)			

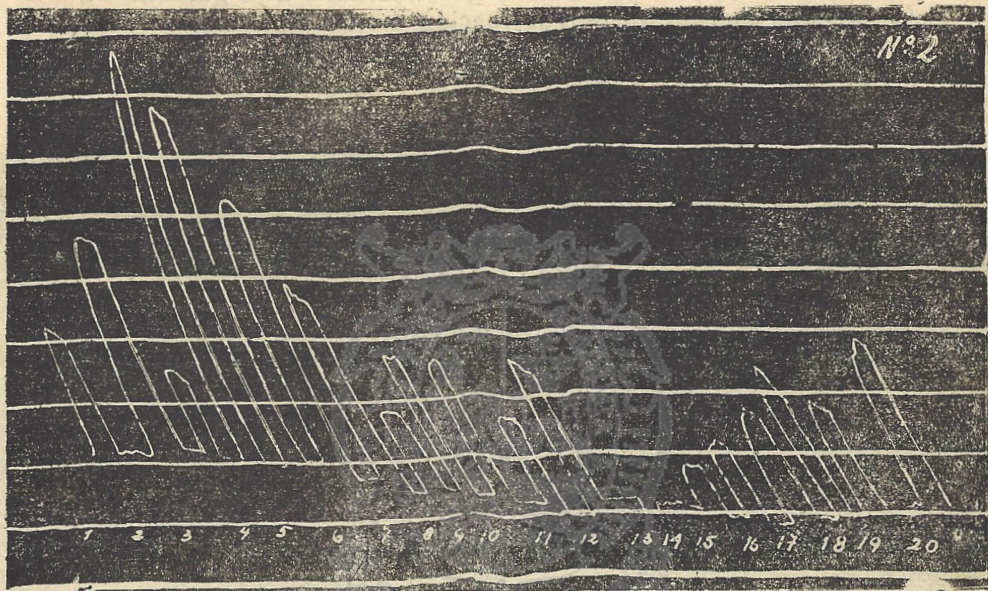
Solución de Acetilcolina empleada al 1/10000. Tiempo de contracción 15 segundos.

Observaciones.— Números 1 a 11a sensibilización de test.

Números, 11b a 19 dosaje del suero humano A, empleando la dilución como factor variable.

Números 20 a 25 dosaje del suero humano B.

Números 26 a 29 testigos. Se comprueba la fijeza en la altura de la contracción y que el suero A es más activo que el suero B.



Dosaje de Colinesterasa con ileon de cobaya

No. 1	Solución Acetile.	0.05	cc.		
" 2	"	"	...	0.1	"		
" 3	"	"	...	0.025	"		
" 4	"	"	...	0.5	"		
" 5	"	"	...	0.4	"		
" 6	"	"	...	0.2	"		
" 7	"	"	...	0.1	"		
" 8	"	"	...	0.025	"		
" 9	"	"	...	0.05	"		
" 10	"	"	...	0.05	"		
" 11	"	"	...	0.025	"		
" 12	"	"	...	0.05	"		
" 13	"	"	0.05 + 1 cc.	suero humano	1/2	+ 2 minutos	
" 14	"	"	0.05 + 1 cc.	"	1/4	+ 2 "	
" 15	"	"	0.05 + 1 cc.	"	1/8	+ 2 "	
" 16	"	"	0.05 + 1 cc.	"	1/16	+ 2 "	

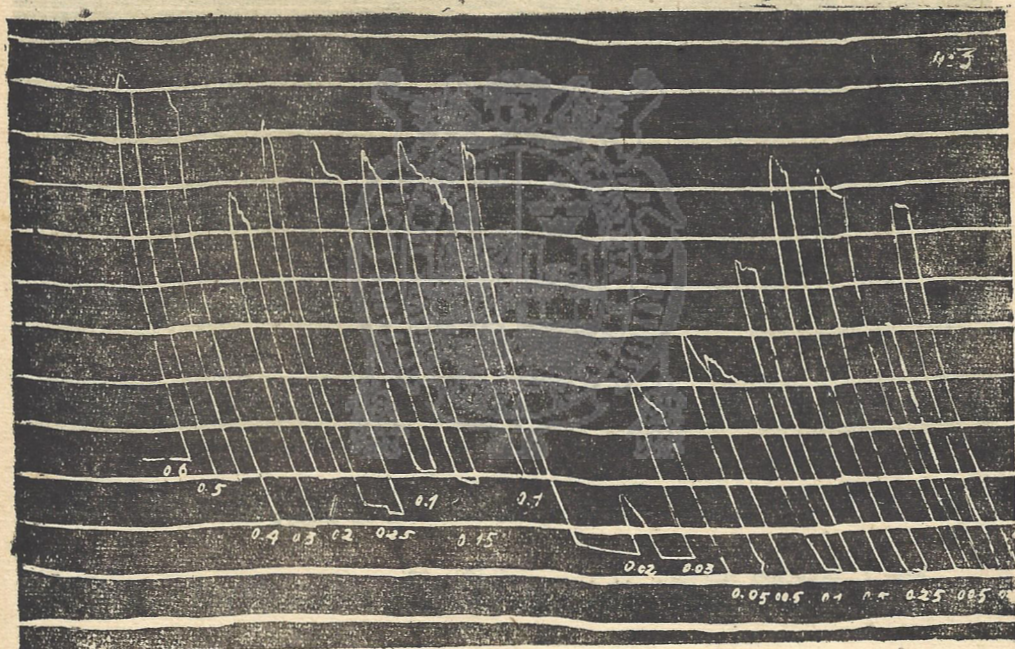
" 17	"	"	0.05	+ 1 cc. suero humano	1/32 + 2 minutos
" 18	"	"	0.05	+ 1 cc. " "	1/64 + 2 "
" 19	"	"	0.025	(testigo)	
" 20	"	"	0.05	(testigo)	

Tiempo de contracción: 15 segundos. - Solución de Acetilcolina empleada al 1/10000.

Observaciones.— Números 1 a 12 sensibilización del test, demostrándose que comenzando a sensibilizar con dosis menores a 10 gammas, se llega a obtener con la dosis de 5 gammas de Acetilcolina una altura de contracción menor de 5 cm. de longitud.

Número 13 a 18 dosaje del suero C.

Números 19 a 20 testigos.



Dosaje de Colinesterasa con ileon de cobaya. — Método de M. Balaguer.

Los números que están bajo cada altura de contracción corresponden a décimas de centímetro cúbico de Sol. de Acetilcolina al 1/10,000, que ha producido dicha altura de contracción.

1	0.6	Soluc. Acetilc.	7	0.1	" "
2	0.5	" "	8	0.15	" "
3	0.4	" "	9	0.1	" "
4	0.3	" "	10	0.02	Soluc. Acetilc.
5	0.2	" "	11	0.03	" "
6	0.25	" "	12	0.05	" "

13	0.05	16	0.25
14	0.1	17	0.05
15	0.5	18	0.1

Tiempo de contracción 15 segundos.

Observaciones.— Se demuestra que comenzando a sensibilizar el intestino con cantidades mayores a 10 gammas de Acetilcolina se llega a obtener con 5 gammas una altura de contracción de 5 cm. de longitud.

Cálculo de los resultados.— Las alturas obtenidas con las dosis conocidas de Acetilcolina 5 gammas y 2.5 gammas, y la serie obtenida con la Acetilcolina residual, de las diluciones al $1/2$; $1/4$, $1/8$, $1/16$, etc., se comparan entre sí, para ver qué dilución del suero destruye 2.50 gammas, y en el caso de la altura de contracción de 2.5 gammas esté comprendida entre dos alturas correspondientes a dos diluciones próximas, se dirá que el suero es activo entre la dilución $1/16$ y $1/32$, por ejemplo. Comparando con otros sueros podía afirmarse que uno u otro es más activo, según sea la escala de dilución necesaria para destruir igual dosis.

Estos son valores relativos; se puede ensayar y obtener valores absolutos, para lo cual en papel milimetrado, y trazando las coordenadas cartesianas, se fija sobre el eje de las "x" el factor dilución y sobre el eje de las "y" la Acetilcolina no destruida (este último resultado se obtiene midiendo el gráfico con una regla milimetrada). Los distintos puntos se unen entre sí, obteniéndose en esta forma una curva donde se busca el resultado por interpolación y donde la misma corta a la horizontal de la dosis $x/2$ (2.5 gammas) ahí se traza; una vertical y se ve dónde corresponde, y el valor así obtenido será la dilución capaz de destruir la dosis $x/2$ en dos minutos.

Suponiendo que el resultado fuera $1/25$ establecemos el cálculo en esta forma:

Si 2.5 gammas se destruyen en 2 minutos por $1/25$ o 0.04 grms.
 2.5 ,, destruirán ,, 1 ,, ,, 0.08 ,,

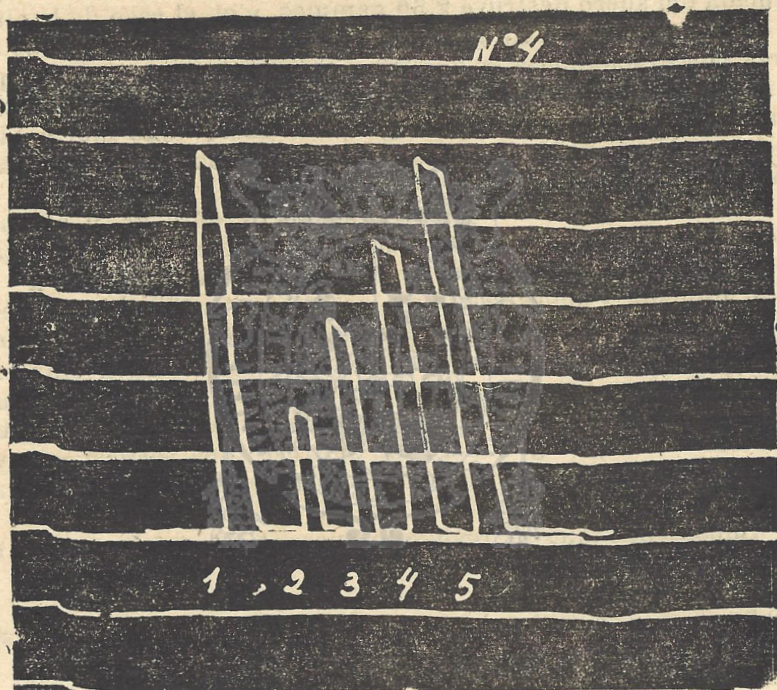
Se comprende que cuanto menor es el volumen de suero capaz de destruir 2.5 de Acetilcolina, mayor será su actividad.

La Colinesterasa es inestable a grandes diluciones.— Si en 4 tubos se coloca en cada uno, una determinada cantidad de suero, por ejemplo 1 cc. de suero diluido al $1/8$, y se agrega al 2º 1 cc. de Ringer; al 3º 3 cc. y al 4º 7 cc. y luego al primer tubo se le agrega una cantidad fija de Acetilcolina, por ejemplo, 5 gammas y se mantiene en contacto un tiempo fijo, sea 2 minutos y se vierte al cilindro de ensayo para su dosaje y lo mismo se hace con los otros tres tubos restantes, siempre, con igual cantidad de Acetilcolina, e igual tiempo de contacto; en la gráfica se obtendrá diferentes alturas que indican que a medida que aumenta la dilución disminuye la actividad de la Colinesterasa,

hasta hacerse cero, desde que se llega a obtener una altura de contracción, igual a la obtenida con la misma dosis de Acetilcolina pura, sin suero (5 gammas). Con esto se demuestra la inestabilidad de la Colinesterasa a grandes diluciones habiendo por lo tanto una dilución máxima para su estabilidad.

Investigación de la actividad de las soluciones de Acetilcolina.— He comprobado que las soluciones de Acetilcolina 1/10,000 preparadas desde hace varios días, son activas para el intestino aislado de cobayo. La altura de contracción alcanza en todas, más o menos, la misma altura, probando que puede utilizarse para dicho fin.

Respuesta del intestino sensibilizado a la Acetilcolina.— He tenido ocasión de experimentar con ileon de cobayo.



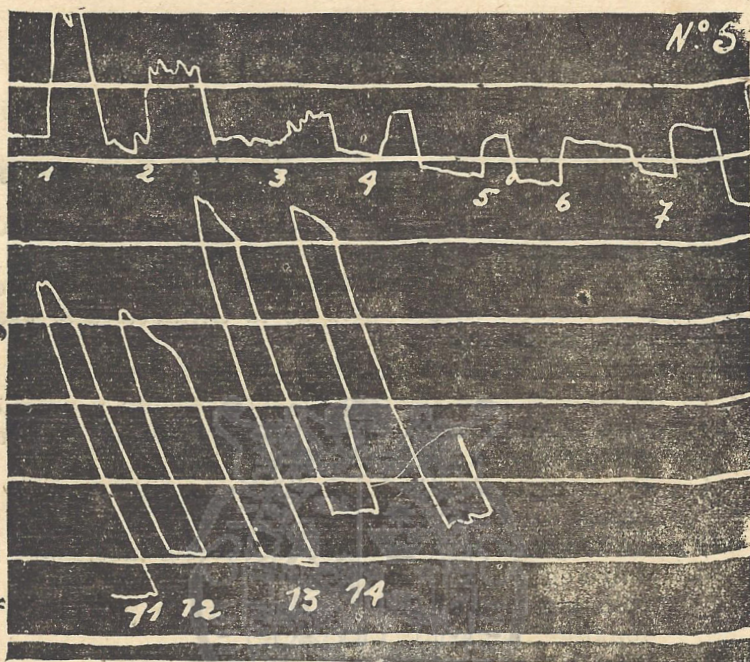
Dosaje de Colinesterasa con ileon de Cobaya sensibilizada.—
Método de M. Balaguer.

No.	Soluc. Acetilc.	0.05 (Testigo)					
1	"	"	0.05	+ 1 cc. suero hum.	1/6	+ 0 cc. Ringer	+ 2 m
3	"	"	0.05	+ 1 cc. "	"	1/16 + 1 "	+ 2 m
4	"	"	0.05	+ 1 cc. "	"	1/16 + 3 "	+ 2 m
5	"	"	0.05	+ 1 cc. "	"	1/16 + 7 "	+ 2 m
6	"	"	0.6				

Solución de Acetilcolina empleada al 1/10,000.

Observaciones.— Número 1 testigo.

Números 2 a 5: Se demuestra la inestabilidad de la Coli-
nesterasa a medida que aumenta la dilución, hasta destruirse
completamente.



Investigación de la actividad del intestino a las soluciones de Acetilcolina que
tienen varios días de preparadas.

No. 1	Soluc. de Acetilcolina	0.05	preparada en el momento del ensayo		
" 2	" "	0.05	" "	hace 1 día	
" 3	" "	0.05	" "	" 2 días	
" 4	" "	0.05	" "	" 3 "	
" 5	" "	0.05	" "	" 5 "	
" 6	" "	0.05	" "	" 8 "	
" 7	" "	0.05	" "	" 10 "	
" 11	" "	0.1	" "	" 1 día	
" 12	" "	0.1	" "	" 8 días	
" 13	" "	0.1	" "	en el momento del ensayo	
" 14	" "	0.1	" "	hace 4 días	

Observaciones.— Números 1 al 14: Respuesta del intesti-
no a la misma cantidad de sol. de Acetilcolina, pero que tiene
diferente tiempo de haber sido preparada. Se demuestra que al-
canzan más o menos la misma altura de contracción sensibiliz-
ado con 4 cc. de suero de caballo, después de 20 días de inocu-
lación; su respuesta a la Acetilcolina es mucho mayor, es decir,
que presenta alturas de contracción casi el doble y en la mitad

del tiempo en comparación con los normales, estando ambos en igualdad de condiciones: temperatura, volumen de líquido de Ringer, concentración de Acetilcolina, etc.

CONCLUSIONES

- 1.—Se describen las propiedades físicoquímicas y biológicas, descubiertas en los últimos años, de la Colinesterasa.
- 2.—Se describe el método de **Mortiner, A. Rothemberg y Nachmansohn**, para obtener y purificar Colinesterasa.
- 3.—Se enumeran los métodos químicos y biológicos para dosar el fermento.
- 4.—Se expone la técnica de **M. Balaguer**, de Rosario (Argentina), para valoración biológica de la Colinesterasa, usando el ileon de cobaya.
Según mi experiencia, en más de 20 ensayos:
 - a).—Es método relativamente rápido, sencillo y práctico.
 - b).—Con fundamento exacto, comprobándose la fijeza en la respuesta del ileon de cobaya.
 - c).—Da siempre resultados semejantes, en igualdad de casos.
 - d).—La longitud de la palanca del aparato inscriptor, influye en la altura de la contracción; sobre ella se ha insistido, especialmente, deduciendo y fijando su longitud, como una constante.
 - e).—Sensibilizando el intestino en los primeros ensayos, se obtiene una mayor altura de contracción, con dosis submáximas de Acetilcolina.
- 5.—La Colinesterasa es inestable muy diluida, de lo que se deduce que la enzima tiene una dilución máxima para su estabilidad.
- 6.—El dosaje de Colinesterasa en líquidos y tejidos debe hacerse teniendo en cuenta el factor dilución, variable que debe ser constante y cambiarse por el factor tiempo como variable; si se usa la dilución como variable, debe agregarse gelatina al 1 % para aumentar la concentración.
- 7.—Las soluciones de Acetilcolina que tienen varios días de preparadas, producen más o menos en el intestino la misma altura de contracción, que la preparada recientemente.
- 8.—El intestino de cobaya sensibilizado con suero de caballo y que responde al fenómeno de **Shulz-Dale**, frente a la Acetilcolina, presenta en la mitad de tiempo, alturas dobles, en igualdad de condiciones.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—Alles G. A. y Hawes R. C.— Cholinesterases in the blood of man.— “Journal of Biological Chemistry”.— Vol. 133, pág. 375.— 1940.
- 2.—Alles G. A. y Hawes R. C.— Cholinesterases.— “Science”.— Vol. 100—pág. 75.— 1944.
- 3.—Antopol Tuchman, Chifrin.— “Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.” — Vol. 46, pág. 36.— 1937.
- 4.—Balaguer M.— Hacia las causas del parto.— La hipofisina y acetilcolina como desencadenante de contracciones rítmicas.— “Revista Médica de Rosario”.— Vol. 34, pág. 195.— 1944.
- 5.—Balaguer M.— Dosaje de colinesterasa.— “Revista Médica de Rosario”.— Vol. 35, pág. 939.— 1945.
- 5a.—Balaguer M.— Colinesterasa placentaria.— “Revista Médica de Rosario”.— Vol. 17, pág. 195.— 1947.
- 6.—Best C. H., Ferguson G. C. y Hershey J. M.— Choline and liver fat in diabetic dogs.— “Journal Physiology”.— Vol. 79, pág. 94.— 1933.
- 5.—Bustinza L. F.— Importancia de la enzimología y aplicaciones de las enzimas.— “Anales de la Real Academia de Farmacia”.— Vol. 8:311.— Madrid.— 1942.
- 8.—Chang H. y Gaddum J. H.— Choline esters in tissue extracts”. — “Journal of Physiology”.— Vol. 79:255.— 1933.
- 9.— Deulofeu y Marenzi.— Química Biológica. —Buenos Aires.— 1946.
- 10.—Dudley H. W.— The alleged occurrence of acetylcholine in ox blood.— “Journal of Physiology”.— Vol. 19:249.— 1933.
- 11.—Engel R. W.— Modified methods for chemical and Biological determination of cholina.— “Biological Chemistry”.— Vol. 144:701.— 1942.
- 12.—Glick D.— The controversy on cholinesterases.— “Science”.— Vol. 102:100.— 1945.
- 13.—Giral F.— Preparación de Productos Químicos y Farmacéuticos.— Pág. 395.— México, 1945.
- 14.—Goodman L. y Gilman A.— Bases farmacológicas de la Terapéutica.— Págs. 350-361.— México, 1945.
- 15.—Giral J.— Fermentos.— México, 1939.
- 16.—Hawes R. C. y G. A. Alles.— “Journal Laboratory and Clinical Medicine”.— Vol. 26:845.— St. Louis, 1941.
- 17.—Hawkins R. y B. Mendel.— True cholinesterase with pronounced resistance to eserine.— “Journal General and Comparative Physiology”.— Vol. 27:69.— 1946.
- 18.—Harrow B.— Tratado y Prácticas de Bioquímica.— México, 1947.
- 19.—Kleinhaus Golman H.— Influencia de la colina dietética en la transmisión neuromuscular.— Tesis de la Facultad de Farmacia.— Santiago, 1945.
- 20.—Laubenfels M. W. de.— Cholinesterases.— “Science”.— Vol. 98:450.— 1943.
- 21.—Mardones J.— Apuntes de Farmacología.— Santiago de Chile, 1945.
- 22.—Marenzi A. D. y Cardine C. E.— Determinación colorimétrica de la colina.— “Rev. Soc. Arg. Biolog.”.— Vol. 18:265.— Buenos Aires, 1942.
- 23.—Mazur A. y Oscar Bodansky.— Mechanism of in vitro and in vivo inhibi-

- tion of cholinesterase activity by diisopropyl-fluorophosphate.— *Journal Biological Chemistry*.— Vol. 163:261.— 1942.
- 24.—Mendel B. y Rudney H.— Cholinesterase and Pseudocholinesterase.— *Journal Biological Chemistry*.— Vol. 37:59.— 1943.
- 25.—Mendel B. y Mundell D. E. and Rudney H.— Specific test for true cholinesterase and pseudocholinesterase.— *Biochemical Journal*.— Vol. 376:473.— 1943.
- 26.—Mendel B. y H. Rudney.— On the type of cholinesterase present in brain tissue.— *Science*.— Vol. 98:201.— 1943.
- 27.— Mendel B. and Rudney H.— Cholinesterases.— *Science*.— Vol. 99:37.— 1944.
- 28.—Mendel B. y H. Rudney.— The cholinesterases in the light of recent findings.— *Journal Biological Chemistry*.— Vol. 100:499.— 1944.
- 29.—Mendel B. y H. Rudney.— Some effects of salts on true cholinesterase.— *Science*.— Vol. 102:615.— 1945.
- 30.—Miquel Ovidio.— The effects chloroform and ether activity of cholinesterase.— *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*— Vol. 88:190.— 1946.
- 31.—Montañés J. M. y J. Sodupe.— Importancia de los fermentos en terapéutica.— *Anales de la Real Academia de Farmacia*.— Vol. 10:307.— Madrid, 1944.
- 32.—Mortimer A. Rothemberg y Nachmansohn D.— Studies on cholinesterase Purification of the enzyme from electric tissue by fraccional ammonium sulfate precipitation.— *Journal Biological Chemistry*.— Vol. 168:223.— 1947.
- 33.—Nachmansohn M. D.— Cholinesterase dans le systeme nerveux central. *Bulletin Société Chimie Biologique*.— Vol. 21:761.— París, 1938.
- 34.—Nachmansohn D. y E. Lederer.— Sur le bioquímie de la cholinesterase —*Bulletin Société de Chimie Biologique*.— Vol. 21:797.— París, 1939.
- 35.—Nachmansohn D. y E. Lederer E.— Sur quelques propriétés chimiques de la cholinesterase.— *Com. Rend. Soc. Biol.*— Vol. 130:321.— París, 1939.
- 36.— Nachmansohn D. y B. Meyerhof.— Relation between electrical changes during nerv activity and concentration of choline-esterase.— *Journal Neurophysiol.*— Vol. 4:348.— 1945.
- 37.— Nachmansohn D. y Rothembereg M. A.— Specificity of Cholinesterase in nerve tissue.— *Journal Biological Chemistry*.— Vol. 158:653.— 1945.
- 38.—Verebely.— *Klinische Wochenschrift*.— Vol. 851.— 1937.
- 39.—Vicent D. Julien A.— Diminution de l'activite cholinesterasique du muscle apres tetanos prolongé.— *Comp. Rend. Soc. Biolog.*— Vol. 135:1646.— París, 1944.
- 40.—Wright C. I.— The inhibition of the Cholinesterase for aromatic amino Alcochols tipo Ar —CHOH-CH₂ NR₂.— *Journal Pharmacology and Experimental Therapeutics*.— Vol. 87:109.— 1946.
- 41.—Zeller A.— Fisiología de los fermentos en el organismo femenino.— *Schw. Medizinische Wochenschrift*.— Vol. 15. 3.— 1941.

Noticias

Bicentenario de Edward Jenner.— En estos últimos meses se ha conmemorado con gran solemnidad en Inglaterra, el segundo centenario del nacimiento de Eduardo Jenner (1749) iniciador de la vacunación antivariólica.

Hijo de un modesto párroco rural, que lo dejó huérfano a los cinco años, nació en Berkeley, en el Gloucestershire. Después de algunos estudios, se colocó como mancebo en una botica hasta los trece años, trasladándose luego a Londres, donde fué discípulo y amigo de su paisano, el gran anatómico John Hunter, hasta graduarse como médico cirujano.

En 1772 volvió a su país natal, donde sus vastos conocimientos, su modo cordial de obrar y la nobleza de su alma le conquistaron pronto las mayores simpatías. Era muy amante de la Naturaleza y un observador perspicaz y paciente.

Un día, de pasada, oyó Jenner a una lechera que no tenía ningún temor a adquirir la viruela maligna "porque ya había tenido la de las vacas (cow pox)". Esta enfermedad consistía en una erupción pustulosa, acompañada de un pasajero malestar general y transmitida de la ubre de las vacas a las manos de los ordeñadores. La observación de aquella mujer era, en aquel condado de Gloucester, cosa sabida y comprobada por todos.

Jenner comprendió el extraordinario valor que esta experiencia podía tener para utilizarlo en la práctica y estudio día tras día, durante más de veinte años, con perseverancia verdaderamente admirable, la forma de solucionar este problema.

Por aquellas épocas la "inoculación" importada del Oriente era ya conocida y aún se había practicado en pequeña escala en diversos sectores de la sociedad. Consistía en inocular en la piel pus de un enfermo varioloso. Generalmente, se manifestaba la enfermedad en forma atenuada; sin embargo, las excepciones a la regla eran frecuentes, y entonces el sujeto inoculado moría de esta operación.

Faltaba el paso definitivo, y éste es el que se debe a Jenner, genial precursor de la moderna higiene, el cual, el día 14 de mayo de 1796 realizó el histórico y crucial experimento. En esa fecha "vacunó" al niño de ocho años James Phipps, con pus tomado de la mano de una lechera infectada con la viruela de las vacas, y ocho semanas después tuvo el valor de inocularle la viruela maligna, sin que se declarase la enfermedad. El paso estaba dado y la prueba de este audaz experimento era completa y definitiva.

Fué entonces cuando expuso sus teorías y observaciones en un librito de setenta y cinco páginas que se ha hecho histórico. Pero la difusión de estas ideas, tanto de palabra como por es-

critó, le obligaron a descuidar su clientela y a realizar múltiples viajes y gastos, hasta el punto de que su situación económica llegó a ser muy embarazosa. Pronto, sin embargo, las ventajas de la vacunación se confirmaron por todas partes y los honores y felicitaciones llovieron de todo el mundo. En 1802, por consejo de sus amigos, solicitó del Parlamento un donativo y fué recompensado por el Gobierno con diez mil libras, concediéndosele una nueva subvención de veinte mil libras más en la votación de 1806.

Nada ambicioso, sin embargo, declinó la proposición de que se le hizo para ejercer en Londres, prefiriendo volver a su ruralia de Berkeley, donde vivió hasta el fin de sus días, muriendo el 26 de enero de 1823. Ecuánime y modesto, decía para justificarse: "Mi fortuna basta para satisfacer mis necesidades y la fama no es sino una dorada coraza, siempre atravesada por las flechas de la malignidad".

Con el progreso y difusión de la vacuna disminuyeron rápidamente en todo el mundo las muertes causadas por viruela y quedó demostrado de modo indiscutible el valor de un medio terapéutico que, años después, iba a conducir a la inmunización del hombre contra las temidas plagas del tifus, cólera y otras mortíferas infecciones, y a constituir uno de los pilares de la higiene moderna.

Quino-Fanyl

USO INTRAMUSCULAR

CADA AMPOLLA CONTIENE:

Quinina Básica	0.06 gr.
Alcanfor	0.07 „
Aceites esenciales	0.27 „
Colesterina	0.08 „
Aceite de olivo e. s. p.	2 c.c.

Para niños, ampollas de 1 c. c.

INDICACIONES: Catarros nasales y bronquiales, gripes, bronconeumonías, bronquitis agudas y crónicas, complicaciones broncopulmonares post-operatorias.

LABORATORIOS
TONEX

REY BASADRE 385.
MAGDALENA DEL MAR.
LIMA - PERU

Mayor de San Marcos