

REVISIONES TERAPEUTICAS

APLICACIONES TERAPEUTICAS DE LA HIALURONIDASA

L. PARÍS RUIZ.

Clinica Médica Universitaria del Profesor JIMÉNEZ DÍAZ.

I. PROPIEDADES BIOLÓGICAS Y TERAPÉUTICAS.

Solamente vamos a tratar de dar una orientación sobre las propiedades biológicas de la hialuronidasa con vistas a que nuestra actuación terapéutica, cuando empleemos este enzima, no sea totalmente ciega. Para el lector especialmente interesado en este problema, le remitimos a otras revisiones donde se trata el tema con más extensión^{4, 10, 34, 46, 47, 48, 58, 109, 132 y 148}, ya que en el presente trabajo únicamente nos extenderemos en lo que a aplicaciones terapéuticas se refiere.

Este enzima fué descrito en 1928 por DURÁN-REYNALS⁵⁵, que lo encontró en extractos testiculares de toro, describiéndolo con el nombre de *factor de difusión*. Más tarde, y merced a los trabajos de MEYER, DUBOS y SMYTH¹⁰⁶ y de otros autores^{76 y 109}, se pudo identificar como perteneciente al grupo de enzimas que depolimerizan el ácido hialurónico.

El *ácido hialurónico* es el elemento específico sobre el cual ejerce su acción la hialuronidasa. Fué descubierto en 1934, por MEYER y PALMER¹⁰⁸, en el humor vítreo del buey. Posteriormente, el primero de estos autores pudo comprobar su presencia en el humor vítreo del gato, en el cordón umbilical humano, en el líquido sinovial, etc., y, lo que ahora más nos interesa, en la sustancia fundamental del tejido conjuntivo. Desde el punto de vista químico, se trata de un ácido del grupo de los mucopolisacáridos, en cuya constitución, no por completo aclarada, figuran la d-glucosamina, ácido glicurónico y N-acetilglucosamina. Es de elevado peso molecular, no dializando a través de las membranas de colodion, de mayor porosidad. No está ligado a ninguna proteína, careciendo de poder antigenico. Precipita ante la solución de ácido acético y, al combinarse con el agua, forma una especie de gelatina. En la sustancia fundamental del tejido conjuntivo se encuentra ligado a otros polisacáridos, en especial al ácido condroitinosulfúrico.

La *hialuronidasa* se encuentra normalmente en diversos microorganismos como neumococos¹²¹, estreptococos hemolíticos¹²², ciertos estafilococos¹⁸ y anaerobios como el Cl. Welchii, Cl. Septicum y Cl. Aedematiens¹²³. También se encuentra en los testículos de diversas especies animales, que es donde primeramente fué descubierta; esta glándula es la más rica en hialuronidasa, observándose que aumenta su concentración con la pubertad¹⁶⁴ y que decrece en la atrofia testicular⁶⁵. El que contiene la hialuronidasa es el espermatozoide y, por tanto, hay bastante paralelismo entre la concentración celular del esperma y su contenido enzimático^{82 y 176}. También puede encontrarse hialuronidasa en el ve-

neno de ciertas serpientes y arañas, en los cuerpos ciliares del iris, en algunos tipos de tumores, en sanguíjuelas, etc.,^{46 y 57}.

La hialuronidasa tiene dos principales *propiedades biológicas*⁴⁶: como fermento, actúa degradando el ácido hialurónico, y como proteína que es, tiene capacidad antigenica. La primera propiedad es la que en este momento más nos interesa.

El *poder enzimático* de la hialuronidasa puede ser demostrado "in vitro" e "in vivo". Para demostrarlo "in vitro", basta con poner una solución de ácido hialurónico en contacto con un medio rico en hialuronidasa (extracto testicular o cultivo de un germe adecuado); inmediatamente se puede observar una serie de cambios: disminuye la viscosidad del medio y ya no precipita ante la solución de ácido acético. No es más difícil la evidenciación "in vivo" de la acción de la hialuronidasa: la solución contenida en el enzima se mezcla a partes iguales con una suspensión de un colorante (hemoglobina, tinta china, etc.) y se inyectan 0,3 a 0,6 c. c. de la mezcla en la piel de un conejo previamente rasurado; en otro lado se inyecta una dilución equivalente con sólo el colorante, pudiéndose así apreciar con facilidad que la primera inyección difunde de tres a cinco veces más rápidamente que la segunda.

Así, pues, vemos que el poder enzimático de la hialuronidasa se traduce "in vivo" en que aumenta la velocidad de difusión a través de los tejidos de los elementos, especialmente líquidos, introducidos en éstos; tal cosa sucede merced a la desestructuración temporal de la barrera intersticial, sustancia fundamental o sustancia interfibrilar mesenquimal^{56 y 120}. Esta barrera debe su consistencia, en gran parte, a los ácidos polisacáridos de molécula gigante, principalmente al ácido hialurónico y condroitinosulfúrico¹¹⁰. Como ya hemos indicado, la hialuronidasa actúa específicamente sobre el ácido hialurónico, el cual, en presencia de ésta, disminuye su polimerización, produciéndose así una importante pérdida de consistencia en los tejidos que contienen cantidades apreciables de este ácido. En la clínica esta reacción sucede casi instantáneamente. Si tenemos en cuenta que el ácido hialurónico se encuentra repartido por casi todos los sectores de la economía, no podrá sorprendernos que la hialuronidasa manifieste su acción prácticamente en cualquier sitio en que sea inyectada. Tras una sola dosis de hialuronidasa, se precisan de 24 a 48 horas para que la barrera intersticial vuelva a su situación normal^{21 y 79}. El efecto difusor de la hialuronidasa se ve entorpecido cuando en el territorio inyectado hay estasis venosa, cuando se han inyectado agentes vasoconstrictores o cuando las proteínas séricas alcanzan muy bajo nivel¹⁴⁸.

Para el uso clínico de la hialuronidasa debemos tener en cuenta, además de las propiedades ya señaladas y que conciernen al enzima en sí, los factores que también dependen del medio, como son la presencia de inhibidores en el suero^{50, 52, 75, 76, 113, 167 y 170}, los cuales, a veces, son anticuerpos específicos, antihialuronidasa, pues, como ya sabemos,

este enzima tiene capacidad antigénica⁴⁶; otro factor a tener en cuenta es la influencia de la presión⁹⁸: ha sido demostrado que con el aumento de presión en el interior de los tejidos la hialuronidasa actúa con más rapidez e intensidad⁸⁰, siendo, por tanto, más activa en los tejidos más firmes, donde la presión inicial es más alta que en los tejidos poco resistentes, más laxos, como sucede en los de los viejos⁷⁹.

La actividad de la hialuronidasa es inhibida por las hormonas esteroides, factor muy importante a tener en cuenta no sólo cuando el sujeto está siendo sometido a tratamiento con ACTH o cortisona, sino también en las condiciones de "stress"^{127, 144, 149, 151} y¹⁵². También otros fármacos inhiben su efecto, como la heparina, estrógenos, antihistamínicos y salicilatos^{51, 74, 127, 152} y¹⁶⁰, habiéndose demostrado, en cuanto a estos últimos, que esta inhibición no se hace a través de la hipófisis o suprarrenales y en virtud, por tanto, de un aumento de ACTH o cortisona, ya que en el animal hipofisectomizado o adrenalectomizado también queda inhibida la acción de la hialuronidasa al administrar salicilatos¹⁵².

El material que se usa en la clínica es un polvo seco que se extrae de los testículos de toro y que generalmente se consigue libre de pirógenos. Se destruye por calentamiento a 100° durante cinco minutos o almacenamiento en medios alcalinos. Es indefinidamente estable en estado seco; muy soluble, es también estable por tiempo indefinido en solución salina, siempre que se conserve estéril. Cuando está disuelto en procaína es estable durante dos semanas por lo menos a la temperatura ambiente y durante cuatro a 5° C. Es mucho menos estable en presencia de agentes oxidantes o reductores.

La potencia del enzima se expresa en unidades de reducción de turbidez (TRU)⁹⁵ o en unidades de reducción de viscosidad (VRU)¹⁰³, según el método que se emplee en la elaboración. Una TRU equivale aproximadamente a 3,3 VRU.

Las preparaciones recientes de hialuronidasa contienen impurezas que ocasionalmente pueden actuar como proteínas extrañas, dando lugar a reacciones y fenómenos de sensibilización⁸¹ y¹⁴⁷. Con la purificación progresiva del producto, las reacciones cutáneas descienden de un 9,3 por 100 en 1948¹⁴⁷ a un 0,08 en 1950¹⁴⁸. Otros autores manifiestan no haber tenido ninguna reacción desagradable entre 150 pruebas cutáneas⁹² y otro¹¹⁴ ha pedido observar tres reacciones de tipo alérgico entre 500 bloqueos nerviosos hechos con la colaboración de la hialuronidasa con fines diagnósticos y terapéuticos. No han sido observados choques anafilácticos por el uso prolongado o repetido del producto. La inyección intravenosa del enzima no parece resultar peligrosa, ya que los inhibidores actúan rápidamente⁵² y⁷⁵.

En cuanto a la dosificación, ya la estudiaremos según los casos en que vaya a ser empleada. En general, se ha podido observar que algunas razas requieren más altas dosis, como pasa con algunos negros, siendo además de menor duración sus efectos. En sujetos viejos, con tejidos inextensibles, se requiere que la inyección se efectúe con una mayor cantidad de líquido o un aumento de la presión local para así conseguir el óptimo efecto difusor. Los enfermos que están siendo sometidos a tratamiento con salicilatos, cortisona, ACTH, estrógenos o antihistamínicos, necesitan más altas dosis para

obtener efectos equivalentes, pues, como ya hemos dicho, estas drogas contrarrestan en parte el efecto de la hialuronidasa^{74, 127, 152} y¹⁶⁰. También hay que elevar la dosis cuando se desea actuar sobre un hematoma para facilitar su dispersión, pues también tiene un efecto inhibidor la sangre total¹⁰.

En general, es suficiente 1 TRU por c. c. para la dispersión hasta de 50 c. c. de líquido. Cuando hay que favorecer la dispersión de un volumen mayor, se disminuye la dosis: 75 a 150 TRU suelen ser suficientes para la rápida dispersión subcutánea de 1.000 c. c. de suero. Lo más sencillo es diluir el enzima en el líquido a inyectar.

Ha sido muy estudiada y discutida la acción de la hialuronidasa sobre las infecciones. Ya hemos visto que este enzima es producido por determinados microorganismos para facilitar su difusión. Esto nos hace suponer que su uso en la clínica podrá ser causa de la diseminación de procesos infecciosos localizados. En efecto, se ha podido observar experimentalmente la diseminación de la infección tuberculosa cuando el bacilo es inyectado en unión del enzima⁴². El efecto de la hialuronidasa sobre la extensión de una infección depende de las concentraciones parciales de aquélla y del germen⁵⁷. Otros autores han considerado que sobre las infecciones generales la hialuronidasa actúa favorablemente, facilitando, por la extensión del proceso, la acción de los anticuerpos que han de destruir el germen¹⁴⁰ y¹⁷⁴ y la fagocitación de los microorganismos por parte de los leucocitos. Por otra parte, se ha descrito también la atenuación de la virulencia de determinadas especies de estreptococos¹⁴⁰, lo cual se debe probablemente a la depolimerización del ácido hialurónico presente en la cápsula de éstos.

Otro problema debatido es el de la acción de la hialuronidasa sobre las tumoraciones malignas. SIMPSON¹⁵⁷ observó que este enzima, inyectado en la base de carcinomas en ratones, aumentaba el poder invasor y la frecuencia de metástasis. Sin embargo, otros autores no han podido comprobarlo³⁶ y¹⁵⁰.

II. APLICACIONES CLÍNICAS.

1.º Cirugía general y pequeña cirugía.

Hipodermoclisis.—Ha sido el primer uso que de la hialuronidasa se ha hecho¹⁴³, y aún es el más generalizado de sus empleos⁷ y²⁰. Está especialmente indicada en niños, en los que la inyección intravenosa suele ofrecer grandes dificultades^{15, 22, 35, 39, 40, 67, 78, 89, 92, 145, 146, 147, 148} y¹⁷². También en adultos es muy útil el empleo de la hialuronidasa en hipodermoclisis, a la que necesariamente hay que acudir en muchos casos en que las venas más accesibles están alteradas o trombosadas por frecuentes inyecciones durante enfermedades crónicas^{1, 16, 44, 49, 79} y⁸⁷.

SCHWARTZMAN¹⁴⁶ mide el tiempo que tarda en inyectar subcutáneamente determinada cantidad de una solución, encontrando que con el auxilio de la hialuronidasa inyecta en 80 minutos la misma cantidad que en 150-180 sin ella. HECHTER⁷⁹ observa que en la hipodermoclisis con esta enzima, la absorción de líquidos es doce veces más rápida que en los controles.

El aumento de la rapidez de absorción previene el peligro de formación de escaras por la presión

de los líquidos sin absorber. El lugar que se ha utilizado para la hipodermoclisis puede de nuevo ser utilizado al cabo de muy poco tiempo¹⁴⁶; como ya sabemos, la desestructuración de la barrera intersticial dura, por lo menos, veinticuatro horas.

Suministrando las soluciones glucosadas hipodérmicamente con hialuronidasa, las curvas de glucemia igualan prácticamente a las que se obtienen mediante la administración de glucosa intravenosa¹¹⁰; también puede administrarse intramuscularmente, pero de esta forma es mucho menos eficaz.

Además de soluciones salinas y glucosadas, pueden ser administrados mediante la hialuronidasa otros tipos de soluciones que, sin ella, producirían grandes trastornos o, por lo menos, intenso dolor. Las proteínas plasmáticas se absorben hasta tres veces más rápidamente cuando se administran con el enzima⁸ y el plasma se absorbe casi con la misma rapidez que las soluciones no proteicas^{67, 72, 143} y¹⁴⁸.

Han sido mucho menos satisfactorios los resultados obtenidos en el intento de conseguir, mediante el concurso de la hialuronidasa, la absorción, por vía hipodérmica, de sangre total: solamente en cuatro casos se notaron ligerísimos aumentos de la cantidad total de hemoglobina, por lo que los autores opinan que sólo en casos de absoluta necesidad puede intentarse esta vía¹⁴⁵ y¹⁴⁸.

En cuanto a la absorción de grasas, tanto en la experimentación animal¹⁴² como en la clínica, se ha podido observar que es comparable a la que se obtiene por la vía intravenosa, sin que se presenten reacciones locales de los tejidos ni queden coleciones residuales¹³⁴.

En general, para todos estos usos, se administra una sola dosis antes de la clisis o bien se inyecta en el interior de la goma durante la primera parte de ésta, empleando 150 TRU en una clisis de 1.000 a 2.000 c. c.; si lo mezclamos con el líquido que se va a inyectar, debe hacerse en proporción de 10 TRU por cada c. c. de solución.

Como se ha demostrado que la potencia difusora de la hialuronidasa aumenta con la presión^{22, 79, 80} y⁸³, puede ésta mantenerse mediante la elevación de la ampolla de suero.

Entre las *contraindicaciones* al empleo del enzima como facilitador de la hipodermoclisis, tenemos los casos en los que hay una baja de la concentración de proteínas séricas, insuficiencia cardiaca congestiva, estasis venoso o shock¹⁴⁶; en estos casos, la contraindicación se basa en que la rápida absorción del líquido gracias a la hialuronidasa puede entrañar en estos sujetos los mismos riesgos que una inyección intravenosa de gran volumen, inyectada rápidamente.

Ya hace tiempo se ha podido comprobar que la administración hipodérmica de soluciones libres de electrolitos pueden producir hipocloremia, hemoconcentración y trastornos de la eficacia circulatoria, debido a la difusión de los electrolitos plasmáticos al lugar de la inyección. Se ha pensado que este proceso puede ser acelerado y revestir una mayor gravedad por la inyección de hialuronidasa. MATEER y colaboradores¹⁰⁵ administran a niños diabéticos suero libre de electrolitos con y sin hialuronidasa. La sumación de ésta no intensifica los cambios bioquímicos y circulatorios que acompañan al mismo líquido, pero sin el enzima. Así, pues, vemos que la adición de la hialuronidasa no incrementa estas alteraciones; pero como, no obstante, éstas están pre-

sentes, hemos de ser cautos en la administración de tales soluciones, especialmente cuando en el enfermo se han podido ya comprobar cambios similares a los que con nuestra actuación vamos a provocar.

Administración de diversas drogas.—También se ha empleado la hialuronidasa para favorecer la absorción de determinadas drogas. Es especialmente útil su empleo cuando se han de administrar grandes cantidades y, sobre todo, si su administración es dolorosa cuando se hace por vía subcutánea.

Así, se ha empleado en la administración de sustancias de contraste para visualización de vías urinarias o biliares^{123, 126} y¹⁵⁶ con resultados que ya analizaremos posteriormente. Para la administración de diversos sueros, como el antisarampionoso¹⁴⁹. Para facilitar la absorción de diversos fármacos, como la penicilina¹¹⁶ y la heparina¹⁶⁹; la administración hipodérmica de esta última, mediante el uso del enzima, se facilita de tal forma que sus niveles en sangre son prácticamente iguales a los que se obtienen con la administración intravenosa de las mismas dosis y a los mismos intervalos. En tuberculosos se ha administrado el PAS de esta forma, encontrándose así niveles en sangre comparables a los que se obtienen con su administración intravenosa y dos o tres veces más altos que con la administración oral de la droga; el máximo nivel en la sangre se encuentra a las seis horas, lo cual sugiere cierto efecto de depósito⁶³ y⁶⁴.

BERGQUIST¹¹ asocia la hialuronidasa a la vacuna BCG empleándola en 95 niños. A los 29 días prueba el grado de sensibilidad mediante inyección intradérmica de tuberculina, observando que la reacción es positiva en un 61 por 100 de los tratados de esta forma, mientras que en los sujetos testigos, a los cuales se les administró sola la BCG, sólo presentaban un 35 por 100 de positividades.

Se ha ensayado su uso para favorecer la absorción de los antibióticos en afecciones pulmonares suppositorias⁹⁸ y tuberculosas⁶⁰, sin que esta práctica haya llegado a extenderse.

CRISP y KENDALL^{13 a} expoen los magníficos resultados que han obtenido con la hidrocortisona localmente administrada en las lesiones reversibles de los tejidos blandos articulares y periarticulares (epieondilitis, bursitis, inflamaciones fasciales, etcétera) acelerando la recuperación. Pero este tratamiento tiene algunas dificultades; en primer lugar, la necesidad de inyectar la cortisona exactamente en el punto lesionado, lo que no siempre es fácilmente hacedero, y en segundo término, los casos en los que por ser muy difusas las lesiones, la hormona—que es muy poco difusible—no las alcanza en su totalidad. Para superar ambos inconvenientes, los autores añaden 1.000 unidades de hialuronidasa, disueltas en 2 a 5 c. c. de clorhidrato de procaina, con lo cual llegan a obtener hasta un 80 por 100 de recuperaciones completas.

Anestesia local.—El uso de la hialuronidasa en asociación a los anestésicos locales tiene múltiples ventajas: es menor la distensión de los tejidos, se aumenta la difusión del anestésico que alcanza así mayor área, difundiéndose más rápidamente, la anestesia es más completa, aunque para ello se utilice una menor cantidad de anestésico y, por último, los edemas y equimosis postoperatorios suelen ser menores o estar ausentes.

En contra de todas estas ventajas hay también algunos inconvenientes, como son la menor duración de la anestesia y una mayor toxicidad del

anestésico, debida a una más rápida difusión y absorción, si bien esta última es más bien una conclusión teórica que no se ha comprobado en la investigación experimental¹⁵³.

La combinación del anestésico local y la hialuronidasa ha sido ampliamente empleada en obstetricia, en el bloqueo del pudendo⁹, ⁵³, ⁵⁴, ⁷³ y ⁸⁵. Las ventajas que la asociación ofrece en este caso son, además de las generales ya mencionadas, el que de esta forma no es preciso introducir el anestésico exactamente hasta el mismo nervio.

En la anestesia caudal no se ha encontrado ventajoso el uso del enzima¹²⁸.

La mezcla de procaina y hialuronidasa para la anestesia local se ha extendido a casi todas las especialidades. THORPE¹⁶⁸ la emplea para la reducción de fracturas. Ya es sabido que la anestesia local difunde de un modo lento e incompleto en el foco de fractura; el citado autor asocia la hialuronidasa en 22 casos de fractura de Coller y cuatro de Pott, encontrando que el método es excelente y, desde luego, superior a la anestesia local por inhalación, intravenosa o regional, pues es más cómoda, segura, rápida y duradera, no precisando hospitalización. Además de esto, tiene la hialuronidasa la ventaja de que al reducir el edema en el foco de fractura permite una mejor manipulación y más pronta reducción.

También con excelentes resultados se ha empleado la asociación de este enzima en la anestesia en cirugía dental⁵⁹, ¹⁰¹ y ¹⁶⁶, para efectuar amigdalectomías⁸⁴ y en cirugía plástica nasal: rinoplastias y resecciones submucosas⁴³. También es muy útil en oftalmología, ayudando a la obtención de una total parásisis de los músculos extraoculares⁶, ³¹, ⁹⁶, ⁹⁹ y ¹⁷¹.

En la anestesia de mucosas aumenta la absorción del anestésico a través de éstas, por lo cual pueden sobrevenir serias reacciones tóxicas, contra las que debemos estar en guardia⁹¹.

En general, se utilizarán 150 TRU, que se inyectan antes en el lugar que se va a anestesiar, o bien se mezclan con el anestésico en proporción de 150 TRU por cada 100 c. c. de procaina.

Cirugía de los tumores malignos.—Varios métodos han sido descritos para señalar los ganglios y vías linfáticas en el curso de las extirpaciones de tumores malignos. Casi siempre se ha empleado la tinción, pero ésta tiene el inconveniente de que se necesita mucho tiempo para que el colorante circule por las vías linfáticas. Por ello se ha recurrido al auxilio de la hialuronidasa en tumores gástricos¹⁷⁵, con buenos resultados. Opina el autor que el método también se puede extender a otras localizaciones tumorales en mama, intestino, etc. Ahora bien, no debemos olvidar, aunque posteriormente no hayan podido ser comprobados, los trabajos de SIMPSON¹⁵⁷, en vista de lo cual no utilizaremos la hialuronidasa sin haber eliminado previamente el tejido canceroso, al menos en lo que nos haya sido posible.

Prevención de adherencias peritoneales.—CHANDLY y RHOADS³¹ espolvorean con talco el peritoneo de un grupo de ratas; a una parte de ellas suministran, también intraperitonealmente, hialuronidasa, observando a continuación que entre las así tratadas se desarrollan adherencias peritoneales en un 40 por 100 contra el 100 por 100 entre las que no recibieron el enzima. Posteriormente experiencias de otros autores confirman estos resultados³⁷ y ¹⁴². De

confirmarse también en la clínica estos estudios tendrían un interesante campo de aplicación en la cirugía abdominal, en la que se vendría a necesitar de 3.000 a 3.750 TRU en un adulto normal.

Parece ser que la hialuronidasa no aumenta la absorción peritoneal¹⁴², lo cual podría ser debido a la gran extensión superficial que tiene esta barrera, lo cual entrañaría una débil concentración del enzima a su nivel¹⁹.

Hidrocefalia.—SCHWARTZMAN¹⁴⁵ emplea la hialuronidasa, en dos casos de hidrocefalia, en instilaciones intraventriculares, con la esperanza de que ésta impidiera el aumento progresivo de tamaño del cráneo. Si bien éste no aumentó durante el tratamiento, sólo en un caso se pudo observar una ligerísima disminución. El mismo autor, en una comunicación posterior¹¹⁶ considera que, aunque la experiencia es aún escasa para poderse pronunciar definitivamente, no cree que sea ésta la solución del problema, siendo probablemente la causa del fracaso la presencia de inhibidores de la hialuronidasa en el líquido cefalorraquídeo.

Dispersión de colecciones de líquidos y edemas.—La reabsorción de sangre y líquidos es casi siempre acelerada por la inyección de hialuronidasa.

Es especialmente útil su empleo para facilitar la reabsorción de derrames articulares. MC'AUSLAND y GARTLAND¹¹⁹ la emplean en derrames articulares en hemofílicos; extraen una pequeña cantidad de líquido articular e inyectan 1.000 TRU disueltas en 4 ó 5 c. c. de novocaina al 1 por 100. A continuación colocan un vendaje compresor y mantienen al sujeto en reposo durante veinticuatro horas. En casi todos sus casos obtuvieron muy buenos resultados. También se ha utilizado con éxito en hemartrosis traumática⁶⁸. Generalmente se suelen emplear 1.000 ó 1.500 TRU disueltas en procaina, manteniendo la articulación con una venda elástica. Sigue bastar con una sola inyección, aunque a veces es preciso repetirla a las veinticuatro horas.

Basándose en el hecho de haber encontrado una disminución de la actividad de la hialuronidasa en las artropatías crónicas, se ha propuesto la administración de ésta para su terapéutica¹¹⁷. Los resultados no han sido muy alentadores y sólo temporales.

Sin embargo, se ha utilizado con éxito en torceduras, esguinces, miositis, bursitis y artritis, sola o asociada a diversos fármacos⁵, ⁸, ⁸¹¹ y ^{43a}.

También se ha empleado con objeto de acelerar la reabsorción de hemotórax e hidrotórax recientes², ³ y ¹³⁵. Los resultados no son muy de tener en cuenta dada la indiscutible superioridad de la aspiración.

Se ha mostrado útil en un caso de mesotelioma de pleura y peritoneo, facilitando la evacuación del material mixomatoso al fluidificarlo, disminuyendo así el grado de intoxicación del enfermo¹⁶³.

Se ha obtenido por medio de la hialuronidasa la rápida reabsorción de hematomas precoces y de edemas traumáticos¹⁰.

Ya hemos estudiado la acción facilitadora que la hialuronidasa ejerce en anestesia local en fracturas. Pero, además, administrada con o sin anestésico, por la rápida desaparición que produce del edema perifocal, permite una mejor palpación y manipulación y, por tanto, una reducción precoz¹¹⁸. En grandes fracturas del antebrazo con hematoma subfascial, la rápida desaparición del edema y de

la sangre evita la aparición de fibrosis y contracciones, así como de miositis osificante⁶⁸.

También ha sido útil en los casos de líquidos irritantes que, al irse a administrar en inyección intravenosa, accidentalmente han caído fuera del vaso¹⁹, ⁷⁷ y ¹¹⁵. Su administración acelera el proceso de reabsorción y disminuye considerablemente el dolor.

Se han obtenido buenos resultados en el mixe-
ma pretibial¹², ⁷¹, ¹⁰⁴, ¹²⁰ y ¹⁷⁴.

Parafimosis.—Es una de las más teatrales indicaciones de la hialuronidasa, ya que a los dos minutos de su aplicación se inicia la desaparición de edema del glande, y a los 12-20 minutos la recuperación es completa sin necesidad de intervención quirúrgica⁶², ¹³⁷ y ¹⁷⁷. Se pueden emplear 150 TRU disueltas en 1 c. c. de suero fisiológico, que se inyecta en el glande, en dos puntos distintos¹³⁷.

Protección de injertos.—Los edemas y posibles hematomas postoperatorios pueden ser evitados mediante inyección de hialuronidasa en el momento operatorio o bien eliminados si ya han hecho su aparición. El uso adicional de una ligera compresión aumenta la eficacia del enzima¹⁹.

Tratamiento de los queloides.—Ha sido utilizado como único tratamiento¹⁸, si bien los mejores resultados se han obtenido asociando la hialuronidasa en inyección local a la cirugía y en la mayoría de los casos también a la radioterapia⁴¹; con este tratamiento mixto no se han observado recurrencias. También la combinación de ACTH y hialuronidasa puede ser útil, por aliviar además el dolor y picazón del queloide³⁸.

2.º Oftalmología.

En primer lugar, hemos de tener en cuenta la utilidad de la hialuronidasa aplicada a la anestesia local en una especialidad como ésta, en la que tan necesario es evitar la distorsión de los tejidos⁶, ³¹, ⁹⁰, ⁹⁹ y ¹⁷¹.

Para su aplicación en oftalmología se han empleado pequeñas dosis; generalmente suelen bastar 5 TRU por cada c. c., casi siempre disueltas en procaina al 1 por 100. Muy eficaz en queratitis⁴⁵. En quince minutos puede mejorar considerablemente un glaucoma⁹⁹, cosa que no han comprobado otros autores¹⁰⁰. También se ha empleado con éxito en casos de iritis, úlceras corneales, pterigium y sinequias posteriores³¹ y ⁹⁹.

Se ha empleado en el exoftalmos. NUZUM¹²⁵ emprende una investigación sobre la acción de la hialuronidasa en el exoftalmos experimental del coba, estudiando así la influencia que la retención hidráica puede tener en éste. En todos los casos se obtuvo absoluta, aunque temporal, desaparición del exoftalmos. Sin embargo, en la clínica no ha sido de utilidad la aplicación retrobulbar del enzima⁹⁰, ⁹² y ⁹⁵. Aplicando además de la hialuronidasa un vendaje compresor sobre los ojos para potenciar el efecto de ésta, llegaron a obtenerse algunos resultados, pero demasiado transitorios para que podamos considerar útil el procedimiento.

3.º Urología.

La aplicación de la hialuronidasa en las litiasis renales está aún sujeta a discusión. BUTT²³, ²⁴, ²⁵, ²⁶ y ²⁷ estudia detenidamente la acción del enzima sobre los coloides de la orina, encontrando que es-

timula la función de los coloides protectores. Alentado por sus hallazgos experimentales, emprende el tratamiento con hialuronidasa de determinado número de sujetos en los cuales era muy frecuente la formación de cálculos, observando un indudable beneficio con la terapéutica, ya que en algunos dejaron completamente de formarse cálculos, mientras que en los demás hubo un indudable retraso en su formación²⁸. Sin embargo, PRIEN¹³⁶ describe un caso en el que, sin duda, el tratamiento por hialuronidasa fué causa del aumento de la formación de cálculos. No se ha podido comprobar "in vivo" la fragmentación de las piedras que se ha visto "in vitro"¹²³ y tampoco en el animal de experimentación se ha evitado, mediante el uso del enzima, la formación de cálculos⁸⁶.

Se han obtenido magníficas pielografías descendentes mediante la administración subcutánea del contraste con hialuronidasa en sujetos (niños o sujetos con malas venas) en los que era muy difícil la inyección intravenosa de la sustancia opaca¹⁰, ²², ²⁹, ³⁰, ⁸⁸ y ¹²⁶. En la zona que va a ser utilizada para la inyección del contraste, se inyectan unos diez minutos antes 150 TRU de hialuronidasa, aunque han sido empleados con éxito tan sólo 30 TRU en 5 c. c. de procaina al 1 por 100.

Se ha empleado también la hialuronidasa, y al parecer con éxito, en hemostasis en resecciones transuréttrales¹⁰, asociando al enzima adrenalina y novocaína.

4.º Obstetricia y ginecología.

Ya hemos mencionado el empleo de la hialuronidasa asociada a los anestésicos locales en el bloqueo del pudendo⁹, ⁵³, ⁵⁴, ⁷³ y ⁸⁵.

Conocemos también la existencia de hialuronidasa en los testículos y que en ellos es donde se puede encontrar una mayor concentración de este enzima, concentración que está en relación a la actividad de la glándula: aumenta con la pubertad¹⁶⁴ y disminuye con la atrofia testicular⁶⁵. Y es que, naturalmente, la hialuronidasa tiene un importante papel en la fecundación; cuando el huevo es depositado en la trompa, aún permanece rodeado de cierta cantidad de células foliculares y por una capa mucosa debida a la secreción de la misma trompa. Una de las acciones del enzima es liberar al óvulo de estas capas, sin lo cual no puede efectuarse la penetración del espermatozoide. La hialuronidasa testicular está generalmente en relación a la riqueza de espermatozoides, y así, en los casos de oligospermia, la cantidad de hialuronidasa es insuficiente para facilitar el camino del espermatozoide. También hay casos en los que, a pesar de haber un normal contenido celular en el esperma, la cantidad de hialuronidasa es escasa o nula. Cabría pensar "a priori" que en estos dos casos la administración de hialuronidasa podría facilitar la fecundación¹⁶¹, ¹⁷⁶ y ¹⁷⁹. En la experimentación animal se ha demostrado que la hialuronidasa añadida a un filtrado de esperma aumenta el porcentaje de fertilización en conejos¹⁴¹. Sin embargo, al intentar trasladar estos experimentos a la clínica, aunque no todos los autores obtienen los mismos resultados, son la gran mayoría negativos¹⁵⁵ y ¹⁶⁵; sólo un autor dice haber observado aumento en la fertilidad de sus pacientes⁹⁷.

En cuanto a la relación que con la hialuronidasa pueda tener la esterilidad femenina, es una cuestión muy poco estudiada, aunque es posible que una de

las causas de ésta sea la presencia de agentes inhibidores de la hialuronidasa en las secreciones genitales. En la experimentación animal, ha podido frenarse la fecundación mediante la introducción de sustancias antihialuronidasa¹⁰¹.

PELLIZARI¹²⁹ ha utilizado la hialuronidasa en el tratamiento de la toxicosis gravídica, al parecer con buenos resultados. Sus trabajos no han sido posteriormente confirmados.

Este mismo autor¹³⁰ encuentra en la experimentación animal que la hialuronidasa administrada en la primera parte del embarazo produce la detención de éste y reabsorción del feto y, en la segunda, acelera la presentación del parto. En vista de lo cual, prueba la administración del enzima en los casos de inercia uterina, observando que, efectivamente, se reanudan las contracciones. Además parece que potencia la actividad de los demás oxitócosicos. La razón de esta acción puede ser, según el autor, un aumento de la oxitocina favorecido por la hialuronidasa, o bien un aumento de la permeabilidad de los vasos placentarios que favorezca la presentación del parto, o bien que, actuando el enzima sobre el componente mucoproteico de las vellosidades coriales, favorezca su desinserción.

Varios autores han empleado la hialuronidasa para favorecer la dilatación del periné rígido durante el parto^{32, 66, 111 y 112}. MINK y LANG¹¹¹ y¹¹², que son los primeros que lo han empleado, comunican haber obtenido muy buenos resultados, pero que no debe emplearse cuando se sospecha que habrá necesidad de alguna operación obstétrica, ya que los tejidos se vuelven friables y las suturas son muy difíciles en ellos. La inyección debe hacerse en el tejido subcutáneo, a nivel de la comisura posterior⁶⁶. En general, no se observan apenas desgarros, y cuando se presentan, no son demasiado importantes. Puede disolverse el enzima en novocaina al 1 por 100³², con lo que además de favorecerse la dilatación puede ser que disminuyan los dolores que produce la distensión. También se han comunicado muy buenos resultados en multíparas con cicatrices perineales⁶⁶.

Describe MINK¹¹¹ tres casos de vírgenes en las cuales, por diversos procesos ginecológicos, hubo que explorar o intervenir quirúrgicamente por vía vaginal. Esto lo consiguió el autor dejando el himen intacto, inyectando hialuronidasa en la base de éste, a nivel de la circunferencia inferior, y en la piel de la vagina. En determinadas condiciones también infiltra la piel de la comisura líminal superior y las partes laterales. A los diez minutos aproximadamente se ha conseguido el máximo efecto del enzima y se puede proceder a la dilatación digital, con lo que el himen prácticamente desaparece, volviendo a restablecerse a las veinticuatro horas aproximadamente.

5.º Aplicaciones en otorrinolaringología.

Ya hemos apuntado la importancia que la hialuronidasa tiene en la anestesia local en ORL.

Asociada al anestésico se ha empleado en amigdalectomías, asociando también antibióticos para contrarrestar el posible efecto difusor que ejerciera sobre los gérmenes amigdalares.

Se ha empleado en amigdalectomías asociada al anestésico y a antibióticos cuando hay abscesos en las amígdalas⁸⁴. También en distintos tipos de sinusitis e infecciones nasales, la asociación del en-

zima a los antibióticos aumenta la penetración y difusión de éstos^{7, 85 y 155}.

WÖLGER¹⁷⁹ comunica haber obtenido excelentes resultados en algunos casos de síndrome de Ménière que trató con instilaciones al oído medio, a través de trompa, de novocaina y hialuronidasa. Repite varias veces el tratamiento, con intervalos de dos o tres días, hasta la desaparición total de los síntomas.

6.º Aplicaciones en dermatología.

Se han obtenido buenos resultados con la aplicación de hialuronidasa por iontoporesis en el escroto generalizado¹⁸³.

La desesperante cronicidad de algunas úlceras de las piernas, como las varicosas, se debe a las dificultades circulatorias que implica la falta de permeabilidad del tejido circundante isquemizado. Por ello se pensó que la hialuronidasa actuaria favoreciendo la circulación por la zona al aumentar la permeabilidad de estos tejidos. Se emplea por iontoporesis^{61 y 184} y añadiendo plasma y antibióticos¹⁸⁵.

BIBLIOGRAFIA

1. ALWALL, N.—Nord. Med., 43, 600, 1950.
2. AMISTANI, B. y VANGELISTA, A.—Minerva Med., 41, 1306, 1950.
3. AMISTANI, B. y VANGELISTA, A.—Ospedale Maggiore, 39, 75, 1951.
4. ANNS.—Of New York Academy of Sciences, 52, 943, 1950.
5. ASHUR, M. E.—J. Nat. Assn. Chiropod., 42, 29, 1962.
6. ATKINSON, W. S.—Arch. Ophthal., 42, 628, 1949.
7. AUBERTIN, E.—J. de Med. de Bordeaux, 127, 830, 1950.
8. BANKS, SELIGMAN y FINE.—J. Clin. Invest., 28, 548, 1949.
9. BAUM, F. E.—Am. J. Obst. & Gynec., 60, 1356, 1950.
10. BAURYS, W.—J. Urol., 66, 265, 1951.
11. BERGQUIST, S.—Am. Rev. Tuberc., 64, 442, 1951.
12. BLOOM, HERRMANN y SHARLITT.—J. Invest. Dermat., 12, 339, 1949.
13. BOE, J.—Acta Path. Microb. Scandin., 21, 587, 1944.
14. BOWMAN, D. E.—Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 66, 1947.
15. BOYD, H. W.—Glasgow Med. J., 32, 214, 1951.
16. BOYENS, H.—Therap. d. Gegenw., 89, 169, 1950.
17. BOYLAND, E.—J. Path. & Bact., 41, 553, 1935.
18. BRAUM-FALCÓ, O. y WERER, G.—Dermat. Wschr., 124, 796, 1951.
19. BRITTON, R. C. y HABIF, D. V.—Surgery, 33, 917, 1952.
20. BUCH, H.—Nord. Med., 46, 1.354, 1951.
21. BUNTING, H.—Anns. New York Acad. Sc., 52, 977, 1950.
22. BURKET, L. C. y GYÖRGY, P.—Pediat., 3, 56, 1949.
23. BUTT, A. J.—J. Florida Med. Assn., 37, 711, 1951.
24. BUTT, A. J.—J. Urol., 67, 450, 1952.
25. BUTT, A. J. y HAUSER, E. A.—New England J. of Med., 246, 604, 1952.
26. BUTT, A. J. y HAUSER, E. A.—Science, 115, 308, 1952.
27. BUTT, A. J., HAUSER, E. A. y SEIFTER, J.—California Med., 76, 123, 1952.
28. BUTT, A. J., HAUSER, E. A. y SEIFTER, J.—Journ. Am. Med. Ass., 150, 1.096, 1952.
29. BYRNE, J. E. y MELICK, W. F.—Urol. & Cutan. Rev., 55, 193, 1951.
30. CAMMENOS, A.—J. d'Urol., 59, 505, 1953.
31. CARRIKER, F. R.—Am. J. Ophthal., 35, 1.765, 1952.
32. CESPEDA, M. y RODRÍGUEZ, D.—Toko-Ginecología Práctica, 13, 210, 1954.
33. CHANDY, J. y RHOADS, J. E.—Federation Proc., 5, 218, 1946.
34. CLIFFTON, E. E.—Am. J. Med. Sci., 228, 568, 1954.
35. COHEN, P.—New York State J. Med., 51, 222, 1951.
36. COMAN, MCCUTCHEON y ZEIDMAN.—Cancer Research, 7, 383, 1947.
37. CONNOLLY, J. E. y RICHARDS, V.—Clin. Congress Am. Coll. Surgeons, pág. 85, 1949.
38. CONWAY, H. y STARK, R.—Arch. Surg., 63, 47, 1952.
39. COOKE, R. E. y POWERS, G. F.—Yale J. Biol. & Med., 23, 228, 1951.
40. COOKE, R. E.—Ped. Clin. N. Amer., pág. 655, agosto 1954.
41. CORNBLEET, T.—Journ. Am. Med. Ass., 154, 1.161, 1951.
42. CORPÉ y COHN.—Am. Rev. Tuberc., 63, 108, 1951.
43. COTTLE y otros.—Arch. Otolaryngol., 52, 389, 1950.
- 43 a CRISP, E. J. y KENDALL, P. H.—Lancet, 1, 476, 1955.
44. DANOWSKI, WINTKLER y ELKINTON.—J. Clin. Invest., 26, 887, 1947.
45. DEKKING, M. M.—Ophthal., 119, 67, 1950.

46. DELAUNAY, A. y VOISIN, G.—Presse Méd., 58, 20, 1950.
 47. DELAUNAY, A. y VOISIN, G.—Presse Méd., 58, 79, 1950.
 48. DELAUNAY, A., FASQUELLE y DELAUNAY, M.—Revue Scientifique, 3, 282, 1,007, 1947.
 49. DELIGNE, P. y HUGUENARD, P.—Anesthesie, 9, 268, 1952.
 50. DORFMAN, A., OTT, M. L. y WHITNEY, R.—J. Biol. Chem., 174, 621, 1948.
 51. DOREMAN, A., OTT, M. L. y REIMERS, E. J.—Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 64, 357, 1947.
 52. DORFMAN, A., OTT, M. L. y REIMERS, E. J.—Anns. New York Acad. Sci., 52, 1,098, 1950.
 53. DOUGLAS y VOSBURGH.—Am. J. Obs. & Gyn., 62, 1,253, 1951.
 54. DUNLAP, J. C. y BROWN, W.—Obs. & Gyn., 3, 498, 1954.
 55. DURÁN-REYNALS, F.—Compt. Rend. Soc. Biol., 99, 6, 1928.
 56. DURÁN-REYNALS, F.—Anns. Inst. Pasteur, 57, 597, 1936.
 57. DURÁN-REYNALS, F.—J. Exp. Med., 69, 69, 1939.
 58. DURÁN-REYNALS, F.—Bact. Rev., 6, 197, 1942.
 59. ECKENHOFF, J. E. y KIRBY, C. K.—Anesthesiology, 12, 27, 1951.
 60. EHLETT, H.—Med. Klin., 46, 716, 1951.
 61. ENDE, M.—South. Med. J., 44, 661, 1951.
 62. ENGEL, W. J.—Cleveland Clin. Quart., 21, 24, 1954.
 63. FISHER, ROBERT e HINSHAW.—Ann. Int. Med., 36, 1,475, 1952.
 64. FLETCHER, H. P.—J. Clin. Invest., 33, 69, 1954.
 65. FOGLIATI, E. y RUFFO, A.—Ric. Stud. Med. Sper. Ital., 18, 255, 1947.
 66. FRENZE, K. H.—Zentr. für Gynäk., 35, 1,602, 1954.
 67. GAISFORD y EVANS.—Lancet, 2, 505, 1949.
 68. GARTLAND, J. J. y McAUSLAND, W. R.—Arch. Surg., 68, 305, 1954.
 69. GLASSMAN, J. M. y otros.—Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 82, 323, 1953.
 70. GLICK, D. y otros.—Fed. Proc., 9, 117, 1949.
 71. GRAIS, M. L.—J. Inv. Dermat., 12, 345, 1949.
 72. GRANT, I. C.—Virginia Med. Monthly, 76, 182, 1949.
 73. GRIFFIN, E. A. y GOLKOWSKI, W. V.—J. Med. Assn. Georgia, 41, 541, 1952.
 74. GUERRA, F.—Science, 103, 686, 1946.
 75. HADIDIAN, Z.—Anns. New York Acad. Sci., 52, 1,105, 1950.
 76. HAHN, L.—Biochem. Ztschr., 318, 138, 1947.
 77. HAIRE, R. D.—Rocky Mountain Med. J., 47, 600, 1950.
 78. HALLMAN, N., KULONEN, E. y FORSANDER, O.—Acta Paediat., 39, 94, 1950.
 79. HECHTER, O.—Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 67, 343, 1948.
 80. HECHTER, O.—J. Exp. Med., 85, 77, 1947.
 81. HECHTER, O., DOPKEN y YUDELL.—J. Pediat., 30, 645, 1947.
 82. HECHTER, O. y HADIDIAN, Z.—Endocrinol., 41, 204, 1947.
 83. HECHTER, O.—Anns. New York Acad. Sci., 52, 1,028, 1950.
 84. HEINBERG, C. J., EYE y EAR.—Nose and Throat Monthly, 30, 31, 1951.
 85. HEINS, H. C.—J. South Carolina Med. Assn., 46, 309, 1950.
 86. HELSBY, VERMENLEN y CROETZ.—J. Urol., 69, 354, 1953.
 87. HENDERSON, WALLACE y FANCETT.—U. S. Naval Med. Bull., 48, 865, 1948.
 88. HINMAN, F.—Arch. Surgery, 63, 585, 1951.
 89. HOLDEN, W. D. y otros.—Surg. Gyn. & Obs., 88, 635, 1949.
 90. HOPKINS, W. G.—Cit. 31.
 91. HOWLAND y PAPPER.—Anesthesiology, 12, 688, 1951.
 92. JAWORSKI y FARLEY.—Am. J. Dis. Child., 79, 59, 1950.
 93. JOHNSON, L. V.—Cit. 31.
 94. KADIN, M.—Am. J. Ophthal., 33, 962, 1950.
 95. KASS y SEASTONE.—J. Exp. Med., 79, 319, 1944.
 96. KEY, S. N. Jr. y KEY, S. N.—Texas State J. Med., 46, 31, 1950.
 97. KURZROK, R.—Anns. New York Acad. Sci., 52, 1,180, 1950.
 98. LAMERS y HEROLD.—Beitr. z. Klin. d. Tuberk., 106, 158, 1951.
 99. LEBENSON, J. E. Am. J. Ophthal., 33, 865, 1950.
 100. LINN y OZMENT.—Am. J. Ophthal., 33, 33, 1950.
 101. LOOBY y KIRBY.—J. Am. Dental Ass., 38, 1, 1949.
 102. LUDANY, OREAN y VADJA.—Arch. Int. Farmacodyn., 88, 496, 1952.
 103. MADINAVEITIA, J. y QUIBELL, T. H.—Biochem. J., 34, 625, 1940.
 104. MANZINI, KAMINSKY y SAVINSKY.—Cos. Argent. de Endoc. y Enf. Nutrición, 2 de mayo de 1953.
 105. MATEER y otros.—Am. J. Med. Sci., 226, 139, 1953.
 106. MEYER, DUBOS y SMITH.—Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 34, 816, 1936.
 107. MEYER, DUBOS y SMITH.—J. Biol. Chem., 118, 71, 1937.
 108. MEYER y PALMER, J. W.—J. Biol. Chem., 107, 629, 1934.
 109. MEYER.—Fisiol. Rev., 27, 335, 1947.
 110. MEYER.—Anns. New York Acad. Sci., 52, 961, 1950.
 111. MINK, E.—Gebartsh, u. Frauenh., 13, 354, 1953.
 112. MINK y LANG.—Dtsch. Med. Wschr., 1, 328, 1952.
 113. MOORE, D. N. y HARRIS.—J. Biol. Chem., 179, 377, 1949.
 114. MOORE, D. C.—Anesthesiology, 11, 470, 1950.
 115. MOORE, D. C.—Anesthesiology, 12, 398, 1951.
 116. MOSELEY y MONTGOMERY.—J. South Carolina Med. Assn., 46, 244, 1950.
 117. MÜNNICH, A.—Dtsch. Med. Wschr., 78, 1,636, 1953.
 118. McAUSLAND y GARTLAND.—J. Bone & Joint Surg., 35, 604, 1953.
 119. McAUSLAND y GARTLAND.—New England J. Med., 247, 755, 1952.
 120. McCLEAN, D.—Biol. Rev., 345, 1933.
 121. McCLEAN, D.—J. Path. & Bact., 42, 477, 1936.
 122. McCLEAN, D.—J. Path. & Bact., 53, 13, 1941.
 123. NARRIS, SIMON y OPPENHEIMER.—J. Mt. Sinai Hosp., 15, 33, 1948.
 124. NESBIT, R. M. y DOUGLAS, D. B.—J. Urol., 42, 709, 1939.
 125. NUZUM, J. W.—Surgery, 33, 550, 1953.
 126. OLSSON, O. y JOFGEN, O.—Acta Radiol., 31, 250, 1949.
 127. OPSAHL, WHITE y DURÁN-REYNALS.—Anns. New York Acad. Sci., 52, 1,061, 1950.
 128. PAYNE y RUPP.—Anesthesiology, 12, 164, 1951.
 129. PELLIZARI, C.—Riv. Ital. Ginec., 36, 85, 1953.
 130. PELLIZARI, C.—Comunicaciones científicas Schering, 1954, fas. III.
 131. PELLOJA, M.—Lancet, 1-2 febrero 1952.
 132. PÉREZ, CH.—Sem. des Hôpitaux, 48, 2,071, 1949.
 133. POPKIN, R. J.—Inv. Dermat., 16, 97, 1951.
 134. POPEIN, R. J.—Angiology, 2, 3,335, 1952.
 135. PRETE y PALOMBA.—Riforma Med., 65, 407, 1951.
 136. PRIEN, E. L.—Journ. Am. Med. Ass., 154, 744, 1954.
 137. RATLIFF, R. K.—Journ. Am. Med. Ass., 155, 746, 1954.
 138. ROBERTSON, ROPES y BAUER.—J. Biol. Chem., 133, 977, 1950.
 139. ROSMAN, D.—New York State J. Med., 50, 1,939, 1950.
 140. ROTHBARD, S.—J. Exp. Med., 88, 325, 1948.
 141. ROWLANDS, I. W.—Nature, 154, 332, 1944.
 142. RUTHENBERG, SELIGMAN y FINE.—J. Clin. Invest., 28, 1,105, 1949.
 143. SANIELLA, L. S.—Yale J. Biol. & Med., 12, 433, 1940.
 144. SCHUMAN, CH. y FINESTONE, A. J.—Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 73, 2, 1950.
 145. SCHWARTZMAN, J.—J. Pediat., 34, 559, 1949.
 146. SCHWARTZMAN, J.—J. Pediat., 39, 491, 1951.
 147. SCHWARTZMAN, J., MENDERSON y KIRK.—J. Pediat., 33, 267, 1948.
 148. SCHWARTZMAN, J. y LEVBARG.—J. Pediat., 36, 79, 1950.
 149. SEIFTER, J. y otros.—Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 75, 337, 1950.
 150. SEIFTER, J. y WARREN.—Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 74, 796, 1950.
 151. SEIFTER, J., BAEDER y BEGANY.—Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 72, 277, 1949.
 152. SEIFTER, J., BAEDER y DERNINIS.—Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 72, 136, 1949.
 153. SEKIJINA, H. y FINK, L. D.—Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 80, 158, 1952.
 154. SHAPIROFF, B. G. y otros.—Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 77, 608, 1951.
 155. SIEGLER, S. L.—Comunicación presentada a la III Reunión anual de la Am. Soc. for Study of Fertility, 1947.
 156. SIMÓN y NARINS.—Am. J. Roengenol., 61, 91, 1949.
 157. SIMPSON, W. L.—Anns. New York Acad. Sci., 52, 1,125, 1950.
 158. SOM, SCHNEIDERSON y SUSSMAN.—Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 70, 96, 1949.
 159. SPIER, I. R. y CLIFFTON, E. E.—Sur. Gyn. & Obst., 98, 667, 1954.
 160. SPRUNT, D. H.—Anns. New York Acad. Sci., 52, 1,052, 1950.
 161. STARY, Z. y TEKMAN, S.—Münch. Med. Wschr., 30, 31, 1951.
 162. STEHENSON, K. L.—Surgery, 30, 845, 1951.
 163. STEWART y MEYER.—Clt. MEYER Physiol. Rev., 27, 335, 1947.
 164. SWYER, G. L. M.—Biochem. J., 41, 409, 1947.
 165. TAFEL, R. E., TITUS, P. y WIGHTMAN, W. W.—Am. J. Obst. & Gyn., 55, 1,023, 1949.
 166. TANZ, JAWORKI y ELKINS.—J. Am. Dent. Ass., 43, 555, 1951.
 167. THOMPSON y MOSES.—Science, 110, 70, 1947.
 168. THORPE, J. N.—Lancet, 1, 210, 1951.
 169. TUCHMAN, M. S. y MOOLTON, S. E.—Am. J. Med. Sci., 219, 147, 1950.
 170. UPSALA, U.—Upsala lacarenf, forth., 53, 39, 1949.
 171. VENCO, L.—Ref. Am. J. Ophth., 34, 651, 1951.
 172. VIGNEC y NICHOLSON.—Ped. Clin. N. América, pág. 661, agosto 1954.
 173. WARREN, G. H.—Anns. New York Acad. Sci., 52, 1,157, 1950.
 174. WATSON, E. M.—Canadá Med. Assn. J., 54, 2660, 1946.
 175. WEINBERG, J. y GREANEY, E. M.—Surg. Gyn. & Obst., 90, 561, 1950.
 176. WERTHESSEN, N. T. y otros.—Am. J. Urol., 54, 565, 1945.
 177. WILLIAMS, S. y BABERLEY, P. L.—Med. J. Australia, 2, 690, 1950.
 178. WILSEN, L. y ARONSON, W.—Fertil. & Steril., 1, 254, 1950.
 179. WÖLGER, G.—Clt. por Comunicaciones científicas Schering, fas. III, de 1953.