

ABREVIATURAS UTILIZADAS

A = Azúcar  
Ac = Acetilación.  
ACTH = Hormona adrenocorticotropa.  
ADP = 5'-Adenosindifosfato.  
AICAR = 4-Amino-5-Imidazol-carboxamid-Ribótido.  
AME = S-Adenosil-metionina.  
AMP = 5'-Adenosinmonofosfato.  
ATP = 5'-Adenosintrifosfato.  
B = Base.  
CIST = Cisteína.  
CoA, SH = Coenzima A.  
CSA = Acido cisteinsulfínico.  
DAAO = D-Aminoácido-Oxidasa.  
DNA = Acido desoxirribonucleico.  
DPN = Difosfopiridinnucleótido oxidado  
DPNH<sub>2</sub> = Idem reducido.  
E = Enzima.

FAD = Flavinadenindinucleótido oxidado.  
FADH<sub>2</sub> = Idem reducido.  
FAD = Flavinadenindinucleótido oxidado.  
GLI = Glicocola.  
GLU = Acido glutámico.  
IMP = 5'-Inosinmonofosfato.  
LAAO = L-Aminoácido-Oxidasa.  
OX = Oxidación.  
P = Fosfato.  
Pi = Fosfato inorgánico.  
PPi = Difosfato, pirofosfato.  
Pyr. PO<sub>4</sub> = Piridoxal-Fosfato.  
Red = Reducción.  
RNA = Acido ribonucleico.  
THFA = Acido tetrahidrofólico.  
TPN = Trifosfopiridinnucleótido.  
TPNH + H<sup>+</sup> } = Idem en forma reducida.  
TPNH<sub>2</sub> }

ORIGINALES

ESTUDIO HISTOLOGICO DE LA CORNEA  
EN COBAYAS SENSIBILIZADOS AL VIRUS  
DE LAS PAPERAS

V. SANCHIS-BAYARRI VAILLANT (\*)  
y H. R. MORGAN (\*\*).

Cátedra de Bacteriología de la Facultad de Medicina  
de la Universidad de Rochester, Estado de Nueva  
York, U. S. A.

Profesor: H. R. MORGAN.

INTRODUCCIÓN.

La hipersensibilidad tardía se diferencia de la hipersensibilidad inmediata principalmente porque parece tratarse de una reacción celular general, no dependiendo de la respuesta de los vasos sanguíneos o de los músculos de fibra lisa. Reacciones de esta clase pueden ocurrir en cultivos de células "in vitro"<sup>1, 2, 3, 4, 5 y 6</sup> o en tejidos sin vasos sanguíneos como la córnea<sup>7 y 8</sup>. Sin embargo, recientemente SCHLOSSMAN y STETSON<sup>9</sup> han realizado un estudio de la vascularización de la córnea durante las primeras veinticuatro horas después de la inyección de ovalbumina, llegando a la conclusión de que la reacción de hipersensibilidad tardía en la córnea no ocurre en un tejido avascular.

La infección en el hombre por el virus de las paperas va acompañada del desarrollo de un estado de hipersensibilidad tardía, como lo prueba el hecho de poder obtenerse una reacción cutánea tardía tras la inyección de virus de las paperas inactivado por el calor<sup>10 y 11</sup>. GLASGOW y MORGAN<sup>6</sup>, estudiando la hipersensibilidad tardía "in vitro" mediante la adición de antígeno

del virus de las paperas a cultivos de macrófagos de bazo de cobaya, observaron que éstos disminuían su motilidad y sufrían lisis.

Es, pues, interesante completar estas investigaciones sobre la hipersensibilidad al virus de las paperas mediante el examen "in vivo" de la córnea. Es el objeto de este trabajo estudiar los cambios histológicos producidos en las córneas de animales sensibilizados al virus de las paperas al reaccionar con su antígeno específico.

MATERIAL Y MÉTODOS.

1. Virus.

Se utilizó la cepa de virus de las paperas adaptada al embrión de pollo aislada por el doctor J. F. ENDERS. El virus infectante usado en estos experimentos fué preparado mediante la inoculación en sacos amnióticos de embriones de pollo de siete días, incubados a 37°, de diluciones al 1 por 100 del virus original. Al quinto día después de la inoculación, los huevos fueron colocados en nevera durante doce horas y recogido el líquido amniótico. La cantidad de virus contenido en este líquido fué determinado mediante el método de la hemaglutinación de los hematíes de gallina.

El virus fué concentrado mediante centrifugación de dicho líquido a 2.500 r. p. m. durante diez a quince minutos en una centrifuga "Internacional" refrigerada. De esta forma se eliminaron restos de huevo. A continuación el sobrenadante fué centrifugado de nuevo con una ultracentrifuga "Spinco", a 30.000 r. p. m. durante treinta minutos para sedimentar el virus. El virus fué diluido en "Hanks's BSS" a un pH de 6,8 a 7,2 y almacenado en nevera a -70° C.

El antígeno empleado en estos experimentos fué preparado a partir de los líquidos concentrados inactivados durante treinta minutos en baño de María a 56° C.

2. Infección de los cobayas con virus de las paperas.

Cobayas pesando unos 250 gr. fueron infectados con 0,1 c. c. de virus infectante por vía intranasal. Tras anestesia con éter, se depositó gota a gota sobre cada uno de los orificios nasales el líquido que se deseaba inocular. El líquido debe aspirarse completamente. En

(\*) Becario del Departamento de Microbiología.  
(\*\*) Catedrático de Microbiología de la Facultad.

ocasiones ocurre que se produce un pequeño reflujo con producción de burbujas. En este caso se continúa, sin embargo, la instilación tras haber renovado la anestesia si fuera necesario.

### 3. Intradermorreacción de los cobayas al virus de las paperas.

Al cabo de cinco o seis semanas después de la infección, los cobayas fueron sometidos a una prueba de intradermorreacción con antígeno del virus de las paperas preparado en nuestro laboratorio, con un antígeno comercial (\*) y con líquido amniótico como control. Los abdomenes de los cobayas fueron afeitados y 0,1 c. c. de cada uno de los productos indicados fué inyectado intradérmicamente. La reacción fué determinada, midiendo a las cuarenta y ocho horas el área de induración desarrollada en torno al punto de la inyección.

Un grupo de cobayas no infectados fueron utilizados como control y sometidos a las mismas pruebas.

### 4. Cortes histológicos.

Realizada la enucleación del ojo, éstos fueron fijados inmediatamente en formol al 10 por 100. Los cortes de la córnea fueron realizados tras inclusión en parafina y teñidos con hematoxilina y eosina.

### 5. Curso de la infección experimental de los cobayas con virus de las paperas.

Durante la primera semana después de la infección se registró la temperatura rectal de los cobayas infectados, notándose solamente una diferencia de décimas de grado sobre el lote de los cobayas no infectados. La aparición de hipersensibilidad tardía fué determinada por inyección intradérmica del antígeno. Aproximadamente el 50 por 100 de los cobayas infectados dieron reacciones positivas con áreas de induración de 4 a 8 mm. con el antígeno preparado en nuestro laboratorio. Sólo los animales que reaccionaron en esta forma fueron utilizados en experimentos posteriores. Ninguno de los cobayas no infectados usados como control desarrollaron intradermorreacciones positivas.

### 6. Inyección intraocular del antígeno del virus de las paperas.

Tras anestesia de los animales, el ojo fué inmovilizado y 0,03 c. c. del antígeno inyectado dentro de la cámara anterior del ojo de un lote de ocho cobayas previamente infectados por vía intranasal con virus de las paperas y con intradermorreacción positiva. La inyección se efectuó con aguja de tamaño 27, introducida cuidadosamente cerca del borde corneal, procurando evitar la lesión del iris y del cristalino.

Exactamente las mismas pruebas fueron realizadas con ocho cobayas no infectados ni sometidos a ninguna prueba de intradermorreacción.

Tras la inyección, las reacciones oculares de los cobayas fué observada en forma similar a la referida por KIRBER<sup>12</sup>, BOLIN<sup>11</sup> y SCHLOSSMAN<sup>9</sup>.

## RESULTADOS.

### Reacciones de la córnea a las cuarenta y ocho horas de la inyección del antígeno.

Los resultados de estos experimentos se encuentran resumidos en el cuadro I. Se observará que en los cobayas normales sólo una vez pre-

CUADRO I

REACCIONES CORNEALES A LAS CUARENTA Y OCHO HORAS DE LA INYECCION DEL ANTIGENO

| Cobaya         | Aspecto<br>microscópico  | Aspecto microscópico |             |
|----------------|--------------------------|----------------------|-------------|
|                | Turbidez<br>de la córnea | Edema                | Eosinofilia |
| SENSIBILIZADOS |                          |                      |             |
| 1.             | +++                      | +++                  | +++         |
| 2.             | +++                      | ++                   | +++         |
| 3.             | ++                       | ++                   | +++         |
| 4.             | +++                      | ++                   | +++         |
| 5.             | +++                      | +++                  | +++         |
| 6.             | +++                      | +++                  | +++         |
| 7.             | ++                       | ++                   | +++         |
| 8.             | +++                      | +++                  | +++         |
| NORMALES       |                          |                      |             |
| 9.             | 0                        | 0                    | 0           |
| 10.            | 0                        | 0                    | 0           |
| 11.            | 0                        | +                    | +           |
| 12.            | +                        | +                    | +           |
| 13.            | 0                        | 0                    | 0           |
| 14.            | 0                        | 0                    | +           |
| 15.            | 0                        | 0                    | 0           |
| 16.            | 0                        | 0                    | 0           |

0 = Ausente. + = Suave. ++ = Moderada. +++ = Marcada.

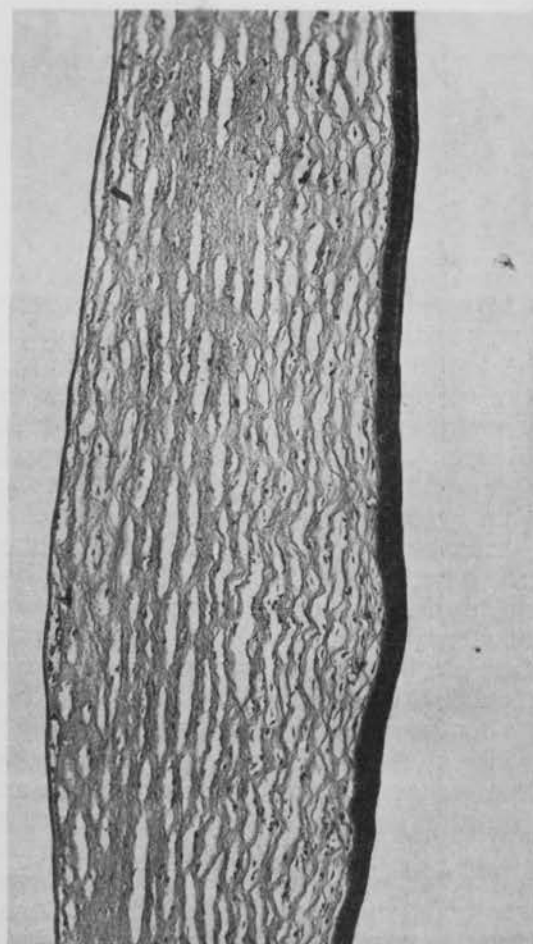


Fig. 1. Corte de córnea en cobaya normal, a las cuarenta y ocho horas de la inyección en cámara anterior, del antígeno. Discreta reacción inflamatoria del estroma, 100 x.

(\*) Obtenido mediante cortesía de los laboratorios Lederle, American Cyanamid Company, Pearl River, N. Y.

sentan queratitis ligera (turbidez de la córnea) y en dos y tres casos, respectivamente, ligero edema y eosinofilia. Por el contrario, en los cobayas sensibilizados se observa en todos, y en grado muy notable, fuerte turbidez de la córnea, edema y eosinofilia.

*Cortes histológicos: Cobayas normales.*

Los cortes histológicos de las córneas de los animales normales utilizados como control presentaban (figs. 1 y 2) a las cuarenta y ocho ho-

en los intersticios producidos por la distensión de las fibras colágenas. El epitelio corneal no presentaba cambios notables. No se observaban signos de descamación epitelial. No se pudo apreciar capilares neoformados en el espesor del estroma corneal ni acúmulo de eritrocitos.

*Diagnóstico histológico:* Discreta queratitis aguda.

*Cobayas sensibilizados.*

En los cortes histológicos de los cobayas sensibilizados inyectados con 0,03 c. c. del antíge-

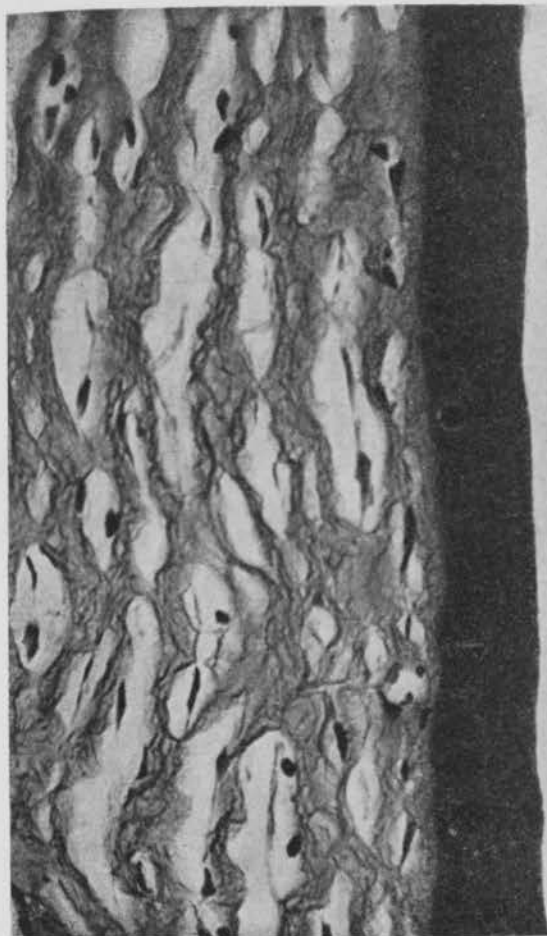


Fig. 2.—El mismo corte a 900 x. Se observa ligero estado de edema y ausencia casi completa de polinucleares y células móviles de la sangre.

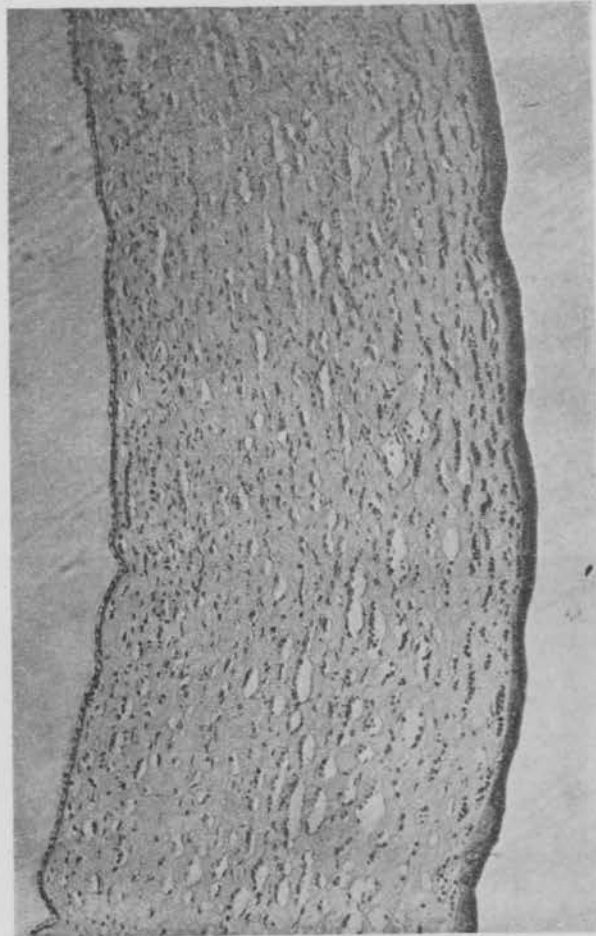


Fig. 3.—Corte de córnea de cobaya, sensibilizado al virus de las paperas, cuarenta y ocho horas después de la inyección del antígeno. Engrosamiento del estroma. Que aparece invadido por numerosos polinucleares. 100 x.

ras de la inoculación de 0,03 c. c. del antígeno del virus de las paperas dentro de la cámara anterior del ojo una discreta reacción inflamatoria, localizada principalmente en el limbo corneal. En éste las células inflamatorias eran predominantemente leucocitos polinucleares neutrófilos, escasos leucocitos eosinófilos, linfocitos y monocitos. El estroma estaba ligeramente engrosado por el edema y la distensión de las fibras colágenas.

La reacción inflamatoria en la córnea propiamente dicha era muy ligera y consistía en raros leucocitos polinucleares neutrófilos y eosinófilos y muy escasos linfocitos y monocitos. Estas células inflamatorias se encontraban situadas

no del virus de las paperas dentro de la cámara anterior del ojo pudo observarse que en general presentaban todos los signos anteriormente referidos y además los siguientes cambios histológicos que describiremos a continuación:

- a) La respuesta inflamatoria a las cuarenta y ocho horas (figs. 3, y 5) era mucho más marcada, tanto en el limbo corneal como en la córnea propiamente dicha.
- b) El edema corneal era más intenso.
- c) Las fibras colágenas estaban todavía más distendidas, dejando entre sí numerosos intersticios.
- d) Las células inflamatorias, muy numero-



sas, ocupaban gran parte de estos intersticios, especialmente en las proximidades del epitelio corneal, siendo mucho más escasas a medida que se acercaban al endotelio corneal.

e) Una notable diferencia con respecto a los animales controles era el gran predominio de leucocitos polinucleares eosinófilos (singularmente cerca del epitelio corneal) entre las células que constituían la respuesta inflamatoria, siendo en cambio escasos los leucocitos polinucleares neutrófilos, monocitos y linfocitos.



Fig. 4.—El mismo corte de la figura 3 a 900 x. Compárese con la figura 2 (de cobaya normal). Se aprecia con más detalle la abundancia de leucocitos polinucleares, singularmente cerca de la basal del epitelio corneal.

f) Entre las células inflamatorias se podían apreciar a veces eritrocitos. Estos se encontraban en el interior de los intersticios formados por la distensión de las fibras colágenas. No se pudo llegar a tener evidencia de la presencia de capilares neoformados en el espesor del estroma corneal.

**Diagnóstico histológico:** Queratitis eosinofílica aguda.

#### DISCUSIÓN.

Las observaciones referidas indican que la córnea normal, como consecuencia de la inyección en la cámara anterior del antígeno del vi-

rus de las paperas, reacciona, produciendo una ligera reacción inflamatoria y un edema del estroma.

En cambio, la córnea de cobayas que fueron previamente sensibilizados al virus de las paperas reacciona al ponerse en contacto con su antígeno específico, produciendo una *queratitis eosinofílica aguda* de posible naturaleza alérgica.

Es interesante destacar el hecho que de HOLLEY<sup>16</sup>, estudiando la hipersensibilidad tardía a la tuberculosis, también en córneas de cobaya,

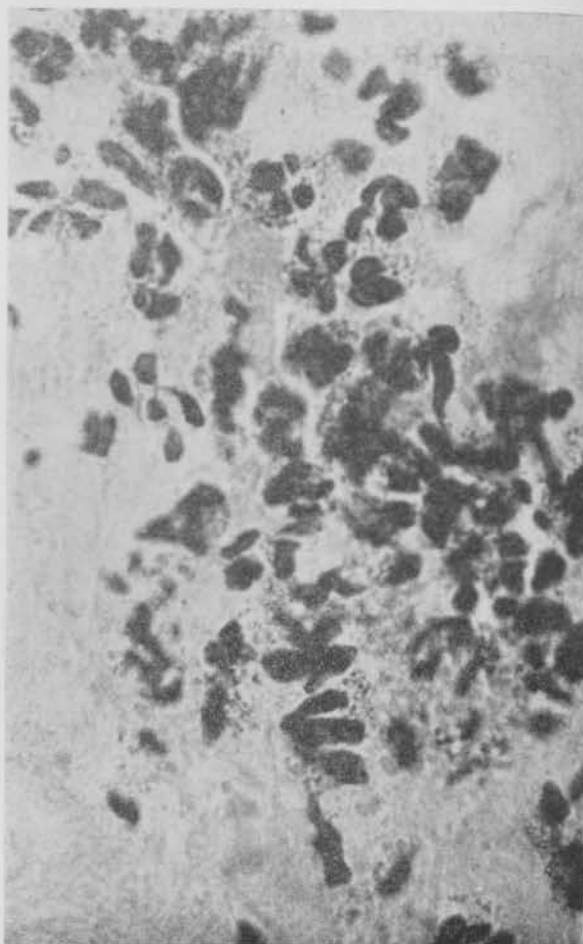


Fig. 5.—Imagen a 1.500 x. del estroma corneal del cobaya sensibilizado al virus de las paperas, a las cuarenta y ocho horas de la inyección del antígeno en la cámara anterior. Fuertes infiltraciones de polinucleares, siendo muy visibles los leucocitos eosinófilos.

no hace ninguna mención a la frecuencia de los leucocitos polinucleares eosinófilos. El problema del origen, naturaleza e interpretación de las eosinofilias tisulares es, según DESCHEINS<sup>17</sup>, uno de los capítulos más oscuros de la Hematología. En este caso, la naturaleza alérgica de la reacción parece indudable.

#### RESUMEN.

La inyección del antígeno del virus de las paperas en la cámara anterior del ojo de cobayas con intradermorreacción positiva a dicho antígeno produce una *queratitis eosinofílica aguda* de posible naturaleza alérgica.

Fundación M. Herbert Eisenhart. Laboratorio de Cultivo de Tejidos del Departamento de Bacteriología de la Universidad de Rochester, Nueva York.

## BIBLIOGRAFIA

1. RICH, A. R. y LEWIS, M. R.—Bull. Johns Hopkins Hospital, 50, 115, 1932.
2. ARONSON, J. D.—J. Exper. Med., 54, 387, 1931.
3. MOEN, J. K. y SWIFT, H. F.—J. Exper. Med., 64, 339, 1936.
4. FAVOUR, C. B.—Proc. Soc. Exper. Biol. and Med., 65, 269, 1947.
5. MILLER, J. M. y FAVOUR, C. B.—J. Exper. Med., 93, 1, 1951.
6. GLASGOW, L. A. y MORGAN, H. R.—J. Exper. Med., 106, 45, 1957.
7. RICH, A. R. y FOLLIS, R. H.—Bull. Hopkins Hospital, 66, 106, 1940.
8. RAFFEL, S.—J. Exper. Med., 90, 53, 1949.
9. SCHLOSSMAN, S. y STETSON, C. A.—J. Immunology, 79, 208, 1957.
10. ENDERS, J. F., KANE, L. W., MARIS, E. P. y STOKES, J. Jr.—J. Exper. Med., 84, 341, 1946.
11. ENDERS, J. F.—Ann. Int. Med., 18, 1,015, 1943.
12. HANKS, J. R. y WALLACE, R. E.—Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 71, 196, 1949.
13. KIRBER, H. P. y KIRBER, M. W.—Arch. Opth., 51, 832, 1954.
14. BOLIN, V. S. y LEYMASTER, G. R.—Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 79, 7, 1952.
15. BOLIN, V. S., ANDERSON, J. A. y LEYMASTER, G. R.—Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 75, 166, 1950.
16. HOLLEY, S. W.—Am. J. Path., 11, 937, 1935.
17. DESCHAINS, R.—Ann. Inst. Pasteur, 88, 679, 1956.

## SUMMARY

The injection of mumps virus antigen into the anterior chamber of the eye of guinea-pigs with positive intradermal reaction to such antigen gives rise to acute eosinophilic keratitis of possible allergic nature.

## ZUSAMMENFASSUNG

Wenn man Mumpsvirus in die vordere Augenkammer von Meerschweinchen mit interdermal positiver Reaktion diesem Antigen gegenüber einspritzt, so wird eine akute eosinophile Keratitis von wahrscheinlich allergischer Natur hervorgerufen.

## RÉSUMÉ

L'injection de l'antigène du virus des goîtres dans la chambre antérieure de l'œil de cobayes avec intradermoréaction positive à cet antigène, produit une kératite eosinophilique aiguë de probable nature allergique.

RADIACIONES DE BAJA PENETRACION  
EN TERAPEUTICA DERMATOLOGICA

## III. ROENTGENTERAPIA PROXIMAL.

*Resultados obtenidos en el tratamiento de los epitelomas cutáneos.*

J. GÓMEZ ORBANEJA, A. QUIÑONES y A. RISCO.

Cátedra de Dermatología de la Universidad de Valladolid.  
Hospital de San Juan de Dios.  
Madrid.

Profesor: Doctor J. GÓMEZ ORBANEJA.

La "roentgenterapia proximal" ("Nahbestrahlung"), conocida también impropiaemente como "roentgenterapia de contacto", al igual que otras técnicas que anteriormente hemos mencionado, representa el resultado de esfuerzos encaminados a conseguir rayos X que, por tener una penetración limitada, permitiesen lograr la acumulación de la dosis en el espesor de la lesión con un mínimo efecto de la radiación sobre las estructuras tisulares más profundas no afectadas por la enfermedad. Estos propósitos se consiguen en este caso principalmente a expensas de un máximo acortamiento de la distancia foco-piel, lo que debido al efecto de la "ley del cuadrado inverso", determina una rápida caída de la dosis en profundidad, proporcionando así una radiación de características muy similares a las de la radiumterapia por contacto.

Es al profesor CHAUL a quien corresponde el

mérito de haber llevado a cabo las investigaciones en que se fundamente la roentgenterapia proximal y de haber sistematizado la técnica que, conocida hoy universalmente con el nombre de "método de Chaoul", ha representado un extraordinario avance en el tratamiento de las neoplasias cutáneas y cavitarias. Se ha dicho que la prioridad en lo que respecta a la idea de la radioterapia de contacto correspondería en realidad a SCHAEFER y WITTE, quienes dieron a conocer en 1932 su método de irradiación intravaginal. Pero las investigaciones de estos autores, simultáneas más que previas a las de CHAUL, se referían solamente a un método ginecológico complementario, muy distinto por otra parte del método de CHAUL.

## MÉTODO DE CHAUL.

Como acabamos de señalar, la roentgenterapia de CHAUL se caracteriza por la *rápida caída de la dosis en profundidad*, pero el método establecido por dicho autor está además definido por otros factores de gran importancia como son el *fraccionamiento de la dosis total* y la utilización de *pequeños campos de irradiación*. Además, la adecuada distribución de la energía ionizante en la lesión que el método proporciona, con el respeto para los tejidos sanos que de ello se deriva, permite totalizar sin riesgo *grandes dosis*, lo que constituiría un cuarto factor entre los que caracterizan a este método.

Respecto a la premisa fundamental del proceder de CHAUL—caída rápida de la dosis en