

LA DOSIS LETAL MEDIA (DL50) DE ACETICOLINA EN COBAYOS NATIVOS DE LIMA Y LA OROYA (*)

(Resumida)

ALFREDO BARREDA BEBIN

INTRODUCCION

El problema del hombre y de los animales, que viven en lugares situados a varios miles de metros sobre el nivel del mar y que presentan múltiples particularidades biológicas distintas al costero en diferentes aspectos, ha concitado nuestra atención y esto debido principalmente al interés que han despertado en nosotros los profesores Carlos Monge y Alberto Hurtado y colaboradores, mostrándonos la completa realidad del tema y la importancia de su estudio en un país como el nuestro, en que su mayoría de habitantes vive en dichos lugares.

(*) Trabajo del Laboratorio de Investigaciones de la Cátedra de Clínica Médica, Hospital Loayza y del Instituto de Biología Andina, llevado a cabo con un donativo de la Escuela de Altos Estudios, Universidad Mayor de San Marcos.

Mi sincero agradecimiento al Dr. Carlos Monge M. y por su intermedio a la Escuela de Altos Estudios de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por haberme proporcionado los medios necesarios para realizar el trabajo. Al Dr. Enrique Fernández, que me sugirió el tema. Al Dr. Dámaso González, Director del Hospital Obrero de La Oroya, por las facilidades prestadas y a médicos, enfermeras y personal del mismo por su ayuda. Al Dr. Carlos Monge Casinelli que nos dió el local e instrumental necesario, para el trabajo llevado a cabo en Lima. Al Dr. Jorge Campos Rey de Castro, y a todos aquellos que nos prestaron su colaboración. En fin, al Dr. Alfredo Brazzoduro de la Hoffmann La Roche, que nos proporcionaron la acetilcolina necesaria para el trabajo.

GENERALIDADES

Nuestro propósito ha sido realizar un trabajo experimental, empleando drogas que están en íntima relación con el funcionamiento del sistema nervioso vegetativo (S.N.V.); entre ellas principalmente las consideradas como intermediarios químicos en la transmisión del impulso nervioso y que será necesario utilizar cuando se lleve a cabo el estudio que aclare el funcionamiento peculiar de dicho sistema en la altura. Además, es útil averiguar, si es posible el empleo de dosis iguales de los intermediarios químicos a nivel del mar y en la altura, ya que se han descrito diferencias para otras drogas, en lo que a dosificación se refiere. En este sentido hemos administrado acetilcolina (ACh) a cuyes autóctonos de Lima y La Oroya, en sus respectivos lugares, determinando la dosis letal media (DL50). Esta dosis la hemos tenido que establecer, a nivel del mar, por no estar consignada en la literatura a nuestro alcance (5) (22) (57) (65) (18) (59).

Elegimos la acetilcolina para nuestros experimentos:

a) Por su importancia como mediador de la transmisión del impulso nervioso y como tal, imprescindible en el estudio del S.N.V.; cuya utilización en la altura ya fué intentada por Cabieses, en trabajos inéditos (8).

b) Por la rapidez de su acción que aleja otras posibles causas de muerte.

c) Por haberse descrito en la altitud hiperanfoexcitabilidad del S.N.V. con tendencia a la vagotonía; y

d) Por la intervención que tiene el parasimpático en la conservación de la vida.

Ahora debemos exponer algunos hechos del FISIOLÓGISMO DEL SISTEMA NERVIOSO VEGETATIVO EN LA ALTURA. En 1928, al publicarse con el título de "La enfermedad de los Andes" (38), el resultado de las observaciones e investigaciones llevadas a cabo por Monge, Encinas, Hurtado y Heraud, se da el primer paso fundamental en

nuestro país, en el camino dirigido a resolver los problemas que implica la vida en las alturas. En los años siguientes continúan las observaciones y en 1935, encontramos publicadas tres memorias, por Monge y colaboradores, sobre los temas de: pulso, circulación y S.N.V. del hombre de los Andes (39) (40) (41), que revisaremos en algunas de sus conclusiones. Dicen: "El ritmo del pulso en el hombre de los Andes, es de menor frecuencia que el del nivel del mar, en condiciones de reposo y de ejercicio". Por otro lado manifiestan, que si el corazón andino debe su eficiencia a una propiedad intrínseca del miocardio; este hecho no puede aceptarse en el recién llegado, de donde tiene que convenirse en el rol primordial que juega el S.N.V. en la regulación de la actividad cardíaca en la altura. Observan el valor supranormal del corazón andino, juzgado por su respuesta cardiovascular. Monge y Pesce (41), refieren: "que la experiencia de la vida diaria en el altiplano nos ofrece peculiaridades vegetativas muy dignas de consideración. Así se ve en el tipo lento de respiración". Practican los reflejos óculo-cardíaco y solar en el hombre y concluyen: "En su ma hipervagotonía, acompañada de una frecuencia de hipersimpaticonía, es la ecuación vegetativa del hombre de los Andes".

Aste Salazar en su tesis de 1936 (2), confirma lo dicho por Monge, Pesce, Cervelli y colaboradores y además establece que: "La reacción normobradicárdica en la costa es de corta duración y poco acentuada; mientras que, en la sierra es prolongada y muy acentuada". Empleando varios reflejos, entre ellos el óculo-cardíaco, encuentra que: "en la sierra los sujetos soportan indiferentes la prueba; en la costa sufren con la prueba: dificultad respiratoria, apnea, mareos, extrasístoles, etc." "En la altura todos los reflejos son de tipo positivo (no hay inversión del reflejo), mientras en la costa hay un 10% de tipo simpático y nulo"; encuentra lo mismo con el reflejo carotídeo. En cambio utilizando el reflejo solar, encuentra mayor excitabilidad simpática en la sierra, por lo que concluye diciendo: "El andino presenta hiperanfocitabilidad neurovegetativa, a predominio vagal".

En 1946, Cabieses (9) realiza un concienzudo trabajo experimental en perros de Lima y Huancayo, llegando a valiosas conclusiones, similares a las de Monge y Aste, añadiendo otras.

En síntesis, los investigadores antes mencionados se pronuncian por la existencia, en el andino, de una hiperanfocitabilidad con tendencia a la vagotonía (39) (40) (41) (41a) (43) (2) (9). Palti (50), no halla relación entre la distonía vagosimpática y la hipercalcemia

que encuentra en el andino. Ultimamente, Hurtado y colaboradores ,no encuentran aumentado el calcio (31).

Es de especial interés recordar, que los efectos producidos por algunas drogas y la tolerancia para ellas, varía según se utilicen en sujetos en la costa o en la altura. Así Monge y Pesce (43), citaron la capacidad del andino para resistir mayores dosis de atropina, y que también refiere Aste (2). Cabieses (8) encuentra diferencias en la administración del cardiozol. Rabinovich (43), empleando sulfatiazol en costeños y nativos de la altura, encuentra mayor toxicidad para éstos, atribuyéndola a: una disminución en la capacidad de oxígeno en la sangre; formación de metahemoglobina en proporciones mayores que las del nivel del mar y a su lenta eliminación, que obliga a una cuidadosa administración. Diferencias en la acción de los anestésicos, fueron señaladas desde 1895 por Benedicenti (64). Entre nosotros Macagno (36) observa en La Oroya que el período de inducción y recuperación son prolongados; Murphy (47a) afirma lo mismo y que con pentotal no se obtiene plano anestésico, sirviendo sólo para la inducción. Cabieses recomienda la administración lenta de la droga (nembutal). Thomas (65) encuentra en conejos aclimatados a Jungfrauhoeh (altitud: 4167 m.) menor intensidad y duración de sus efectos, en comparación con los experimentos en Ginebra; señala lo mismo para los barbitúricos.

En la actualidad, adquiere cada día más importancia el estudio de los factores farmacológicos que pueden aumentar la tolerancia a la hipoxia y de los que la disminuyen. Posiblemente esta orientación podría ayudar a resolver el problema del tratamiento del soroche agudo y del mal de montañas crónico. La mayoría de investigaciones se han realizado en cámaras barométricas, en condiciones de hipoxia aguda, y vinculadas al progreso de la aviación.

Experimentalmente, se ha comprobado que aumentan la tolerancia a la hipoxia aguda: la acetilcolina en hombres (65), perros (65) y cobayos (17) (65); el extracto de corteza suprarrenal (64) y el A.C.T.H. (14) en ratas; la centropneína uno de los principios de la vagotonina en los cobayos (55) y también las vitaminas A, B y C (65). Además los hipotiroideos o eutiroideos con administración de tiuracilo, tendrían una mejor aclimatación (65).

Disminuyen la resistencia a la hipoxia aguda: la clorpromazina en cobayos (55) (13), contrariamente a lo que suponían sus investigadores; los antihistamínicos de síntesis en perros (55) y la atropina (65). Lo mismo ocurre con la morfina (65) y la hipoglicemia (65).

Para terminar esta sucinta revisión diremos que: López Pizarro (34) ha hecho un importante trabajo sobre los valores de acetilcolinoesterasa globular y colinoesterasa plasmática en sujetos de la costa y de Morococha, cuyos resultados nos serán sumamente útiles, a propósito de la discusión de nuestros hallazgos. Con acetilcolina y colinoesterasa también han trabajado en nuestro medio: Battistini (4), Fuentes Zanabria (19), García Chávez (21), Laos (33), Villanueva (67) y Ludmir (34a). Dosando 17 cetoesteroides y utilizando A.C.T.H. en la altura tenemos a Calderón (10), Apaza (1) y Rodríguez (58).

MATERIAL Y METODOS

Se ha utilizado para nuestro ensayo el cobayo corriente, conocido vulgarmente, en nuestro medio, como cuy, habiendo usado indiscriminadamente sus tres variedades: cavia, cobaya n.v. cuy doméstico, cavia cobaya n.v. cuy y cavia echudi n. v. cuy. Hemos elegido este animal, ya que, según Mori Chávez (45) (46) (47), parece ser uno de los animales más sensibles a la anoxia y a la vez paradójicamente, es un animal autótono bien aclimatado tanto a la altura como al nivel del mar, desde tiempos inmemoriales.

En Lima (altitud 150 m.) el peso de los 42 animales empleados fluctuaba entre los 500 y 334 g., con excepción de 3 de ellos que llegaron el que más a 550 g. y otros 3, pesando el que menos 225 g. Para comprobar la efectividad de la dosis letal cien por ciento (DL100), utilizamos además dos series de animales cuyos pesos variaban entre 290 y 560 g.; inyectándoles dosis que sobrepasaban ampliamente la DL100.

Los animales, debido a la carencia de criaderos especiales, los adquirimos del mismo proveedor en el Mercado Central de Lima, cerciorándonos que fueran de la localidad o de Huacho. Se pudo descartar así, los traídos de Cajamarca y que son los que más fácilmente se consigue.

En La Oroya (altitud: 3730 m.) utilizamos 42 animales, no habiendo podido encontrar un peso tan parejo como en Lima; así variaban entre 580 g. y 215 g. en los casos extremos, y con un promedio general de peso inferior al de los animales utilizados en la costa. Adquirimos los animales en La Oroya Vieja; alrededores del Hospital Obreiro; pueblos de Sacco y Pacha, comprándolos al regateo de los mismos pobladores, con lo que nos cercioramos de su procedencia; ya que los expendidos en la plaza de abastos, procedían en su mayoría de Tar-

ma. Múltiples dificultades tuvieron que ser vencidas a este respecto y que nos imposibilitaron la adquisición de un mayor número, para ser utilizados con otras drogas.

El sexo ha sido tomado, en los grupos por dosis, indiscriminadamente y no en un 50% como debía ser, debido a las dificultades de aprovisionamiento. Se descartaron las hembras preñadas, para mayor homogeneidad de los grupos. Antes de ser sometidos a la prueba de toxicidad, los animales estaban privados de todo alimento, con excepción de agua, durante 24 horas. Las pruebas se efectuaron en Lima el 30 de Noviembre y el 6 — 7 — 13 y 15 de Diciembre de 1955 y no en un margen de tiempo más estrecho, como es de desear, y fue hecho en La Oroya el 21 y 22 de Marzo de 1956.

La acetilcolina utilizada ha sido: el cloruro de acetilcolina, seca y cristalizada, que comercialmente se expende en ampollitas de 0,200 g., selladas al vacío. Las soluciones han sido preparadas inmediatamente antes de usarse; partiendo de una solución patrón que contiene 0,100 g. por ml., habiéndose hecho las diluciones en tal forma, que contengan el número de mg. de la dosis a emplear por ml. y por Kg. de peso del animal. De esta forma el volumen inyectado, está de acuerdo al peso del animal, con una aproximación, en los casos en que no es coincidente de 0.005 de ml.; o sea de 0.0005 g. La administración de la droga, ha sido hecha en la vena safena externa de la pata derecha, en forma violenta, previa fijación, a la mesa apropiada, de sus cuatro extremidades; las que se soltaban inmediatamente de puesta la inyección.

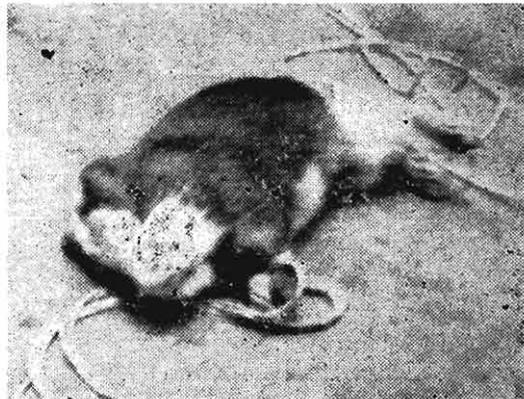
A animales testigos en Lima y La Oroya, se les inyectó agua destilada; como pruebas de control.

El criterio de muerte estuvo dado: por la abolición del reflejo corneal; y el tiempo de recuperación en los sobrevivientes, por el momento en que el animal se incorpora sobre sus extremidades.

En las pruebas de toxicidad, como es conocido, es necesario inyectar cantidades variables de la droga y generalmente se ha procedido utilizando dosis escalonadas, definidas por una serie aritmética y que como tal difieren variablemente en su porcentaje; así por ejemplo en la serie 1, 2, 3, 98, 99, 100; la diferencia entre 1 y 2 es del 100% y entre 99 y 100 la variación es sólo del 1%. Sabemos que cualquier dosis que se calcula por este procedimiento u otro cualquiera, será una dosis aproximativa; pero en la serie aritmética, la aproximación será siempre variable, lo que da lugar a distribuciones equívocas en la curva de los resultados. En nuestro caso, hemos utilizado para este



1



2

efecto una serie geométrica y en la cual cada dosis crece con respecto a la anterior en un mismo porcentaje, como podemos ver en la serie: 1.000, 1.414, 1.999, 2.826... en que el incremento es siempre igual; o

que $Q = \sqrt{2} = 1.414214$; o sea del 41.4% y por lo tanto la exactitud del experimento, será siempre la misma cualquiera que sea la dosis. La serie de Augsberger que empleamos (71) representa la serie

$V = 2^{n/14}$ para valores enteros de n ; creciendo sus términos en un 4,43% con un error de $\pm 2.21\%$.

En esta forma que hemos procedido a la determinación de la dosis letal media (DL50) para toxicidad aguda; o sea, de la dosis que mata en forma aguda al 50% de los animales de experimentación.

Los resultados de las pruebas de toxicidad, generalmente se acostumbra a expresar en la forma de: "dosis tóxica", "dosis letal mínima", etc., que por razones obvias no representan la realidad. Así por ejemplo la "dosis letal mínima" no existe, ya que, teóricamente, si se tiene un crecido número de individuos, en los cuales se administra una droga, llegará encontrarse a aquel, que sea muerto por una molécula de ella. Por ello es mejor tener una idea de los "efectos usuales" de la droga o uno que sea determinado en la "mitad de una población" y que será de mayor utilidad científica y práctica. Esta última es la "dosis efectiva media" o "letal media" en nuestro caso, que como ocurre con todas las pruebas de mortalidad, sigue la ley "del todo o nada", y que será variable dada la diferente susceptibilidad de los animales para determinadas dosis y mensurable por el número de los que fallecen. Trevan en 1927 (7) en su estudio sobre digital, estableció que si se trabajaba con 30 animales por grupo (número que por razones eco-

nómicas puede simplificarse), puede determinarse una gráfica, relacionando la dosis en el eje de abscisas con el porcentaje de mortalidad en las ordenadas; esta gráfica es una curva sigmoidea, característica de la droga, del efecto y de la especie, pudiendo calcularse la dosis efectiva letal, para cualquier porcentaje de mortalidad. Sabido es que cuando se observa el efecto de la respuesta en el porcentaje, la relación entre el porcentaje de animales y el logaritmo de la dosis, también nos da una curva signoideo. Gaddum (7), con el objeto de que la respuesta gráfica fuese lineal, propuso que, en lugar del porcentaje se tomara la "desviación equivalente normal". Integrando los valores de la



3



4

escala porcentual de 0 a 100, se nota que el valor 50% corresponde a la mitad de la curva normal, o sea al valor 0 y así a ambos lados se tendrán valores positivos (+) y negativos (-), como se puede ver en la tabla (7):

Valores integrados de los : porcentajes	Desviación equivalente normal	Probit correspondiente
2,28 %	- 2.0	3.0
15,9 %	- 1.0	4.0
50,0 %	0	5.0
84,1 %	+ 1.0	6.0
97,72 %	+ 2.0	7.0

Para comodidad del trabajo, Bliss (7) con el objeto de eliminar los signos positivos y negativos, sumó a los valores de la desviación equivalente normal, el número 5.0 y al resultado llamó "Probits", palabra

hoy de uso universal y que corresponde a "unidad de probabilidad". De esta manera el probit se define como: "la desviación equivalente normal aumentada de 5"; y su fórmula es:

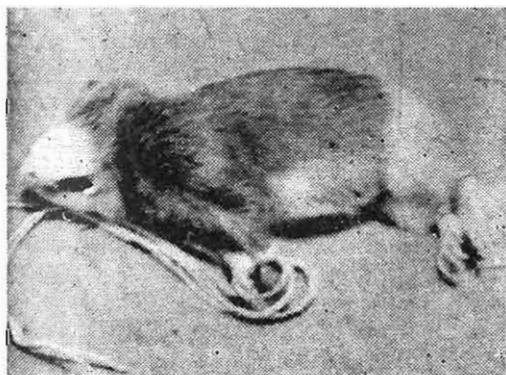
$$\text{probit} = 5 + \frac{X - \mu}{\sigma}$$

Donde: X = valor de cualquier dosis.
 μ = media de la distribución de los valores.
 σ = desviación standard.

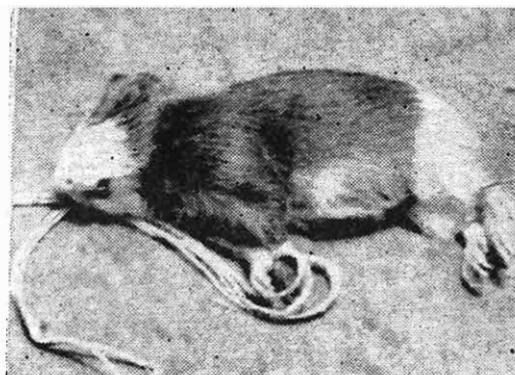
Para la conversión de los valores porcentuales en probits, hemos utilizado el Nomograma preparado por Schach y Geiger (72); para los cálculos e así de la DL50 y de los probits correspondientes a 0 y 100, se utilizó el procedimiento de Miller y Tainter (35), que sirve también para encontrar el error standard. Posteriormente se determinó el significado de la diferencia, mediante una fórmula que citaremos a propósito de los resultados (29).

RESULTADOS

Estos quedan resumidos en las figuras 1 y 2, que exponen los resultados de Lima y La Oroya, respectivamente. La escala vertical corresponde a cifras de la serie de Augsberger, dejando en blanco las dosis no utilizadas, expresada en mg. de acetilcolina por Kg. de peso



5



6

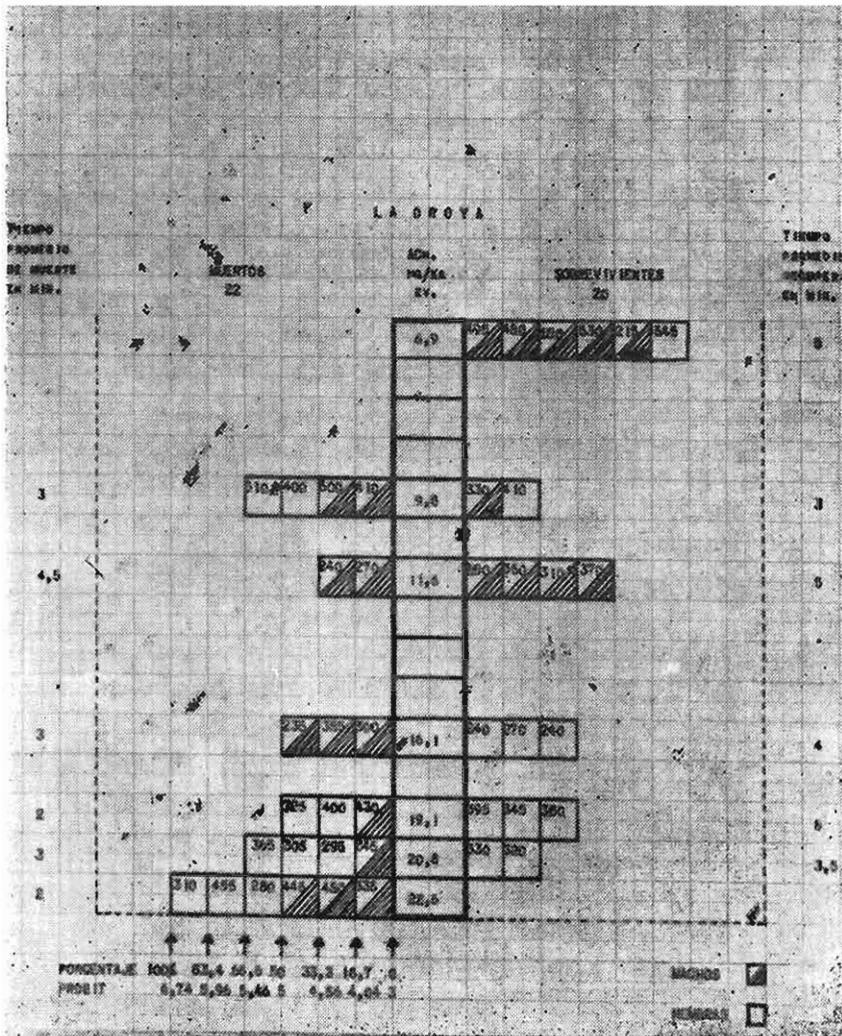


Figura 2

La distribución de los 42 animales en Lima, como en La Oroya, es uniforme tanto en lo que respecta a la mortalidad como a los sexos en su totalidad, como se ve en las cifras respectivas, lo que corresponde a la distribución normal.

En Lima, de los 20 muertos, 10 han sido machos y otros tantos hembras. De los 22 sobrevivientes, 12 han sido machos y 10 hembras.

En La Oroya, de los 22 muertos, 12 son machos y 10 hembras. De los 20 sobrevivientes, a cada sexo le corresponde la mitad (10 a 10).

Las dos series de cuyes hembras, correspondientes a las dosis de 52.5 y 250 mg/Kg. quedan fuera de la computación estadística, por ser comprobatorias de la efectividad de dosis superiores a la DL100.

Inyectada la acetilcolina endovenosamente, se observa cuando las dosis son próximas a la DL50 : un

1.—Síndrome respiratorio: el animal realiza una brusca contracción y permanece sin respirar (fase de apnea) por algunos segundos, variando en cada caso particular. Luego se inicia una respiración boqueante, de inspiraciones profundas, que no guardan ningún ritmo y se intercalan con períodos de apnea de duración variable. Algunos mueren entonces, otros lo harán en el estadio siguiente; en el que se aprecia que los movimientos respiratorios adquieren cierta regularidad; dejan de ser boqueantes, hasta adquirir ritmo, llegando algunos a tener polipnea. Los que han de sobrevivir permanecen así, no observándose ya otros cambios. Dentro de este síndrome está comprendido el hecho, de que algunos tenían ruidos bronquiales audibles a distancia.

2.—Síndrome motor: la mencionada contracción brusca que realizó, dura varios segundos; está inmóvil el animal, siendo luego interrumpido por movimientos de flexión de las extremidades y, posteriormente, extensión de las mismas, lo que se repite varias veces. Los que fallecen cesan en sus movimientos; los que se recuperan, se incorporan sobre sus extremidades, iniciando, unos cuantos, la marcha.

3.— En las conjuntivas palpebrales de todos, se aprecia secreción blanquecina.

4.— Algunos emiten orina.

La descripción precedente, es para mayor claridad del asunto, ya que los fenómenos se suceden rápidamente, acaeciendo algunos al mismo tiempo. Cuando los animales recibían dosis altas, DL100 o mayores, morían casi instantáneamente o bien presentaban períodos de apnea más prolongados. Frommel y Piquet (18), cuando inyectaban subcutáneamente dosis letales de acetilcolina al ratón, refieren que "la muerte del animal se acompaña de depresión notable, interrumpida por crisis epilépticas, la respiración se modera, se vuelve asmátiforme; las conjuntivas se recubren de un mucus blanquecino; los miembros son asiento (sobre todo después de cesar la respiración) de sacudidas y fibrilaciones".

Transportando los resultados obtenidos en Lima al papel probit y determinando la línea por el centro de gravedad de los triángulos trazados, se ve que cruza la línea horizontal correspondiente al probit,

5, a la altura del valor 1,76 de las abscisas que equivale a 17,6 mg/Kg. de acetilcolina, que es la DL50.

Procediendo en igual forma con los resultados conseguidos en La Oroya, se obtiene como DL50 = 15 mg/Kg.

La determinación del error standard (ES), ha sido calculado con la siguiente fórmula (35):

$$ES = \frac{2s}{\sqrt{2N}}$$

En la cual 2s es igual a la diferencia del valor de las dosis correspondientes a los probits 6 y 4; o sea:

$$27.0 - 11.5 = 15.5$$

y N el número de animales que se han utilizado comprendidos entre los probits 6,5 y 3,5 igual a 30.

Reemplazando:

$$ES = \frac{15,5}{\sqrt{2 \times 30}} = \frac{15,5}{\sqrt{60}} = \frac{15,5}{7,75} = 2$$

De igual manera los resultados en La Oroya para el error standard son:

$$2s = 21,8 - 10,4 = 11,4$$

$$N = 30$$

y aplicando la fórmula:

$$ES = \frac{11.4}{\sqrt{60}} = \frac{11.4}{7.75} = 1.47$$

Lo que definitivamente:

LIMA		
DL50	17,6	mg/Kg
ES	±	2

LA OROYA		
DL50	15	mg/Kg
ES	±	1,47

Calculando el significado estadístico de la diferencia por la fórmula (29)-:

$$\text{ES de la diferencia} = \sqrt{ES_1^2 + ES_{11}^2}$$

Reemplazando:

$$\sqrt{(2)^2 + (1,47)^2} = \sqrt{4 + 2,16} = \sqrt{6,16} = 2,48$$

Siendo la diferencia 2,6 (17,6 — 15 = 2,6), menor que el doble del error standard 4,96 (2 x 2,48), nos indica que es una diferencia no significativa.

DISCUSION

La "dosis letal media" de acetilcolina endovenosa, determinada en cobayos nativos de Lima y La Oroya, es decir: 17,6 mg/Kg; FS ± 2.0 y 15 mg/Kg.; ES ± 1,47, respectivamente, con una diferencia de 2,6 que no es significativo estadísticamente; lo que nos está indicando una igual dosis letal media de la droga, en estos animales. Es decir, que sea cual fuere el mecanismo adoptado por los organismos que viven en la altura, para que el sistema nervioso vegetativo funcione con las características anotadas; este mecanismo es de tal naturaleza, que le permite resistir la acción de iguales dosis de acetilcolina, que los del nivel del mar.

Sin embargo queremos señalar, que antes de efectuar los ensayos, nos encontramos con que habían factores, que sugerían la posibilidad de que existiese una mayor tolerancia en los animales de altura que en los de la costa. Si bien habían otros factores que indicaban lo contrario, o sea una mayor toxicidad de la droga para los andinos.

Así habían hecho experimentales aislados y principalmente relacionados a estudios en hipoxia aguda, disímiles al parecer del problema de hipoxia crónica, estando vinculado a nuestro tema el que comprueba que la acetilcolina administrada, aumenta la resistencia a la hipoxia aguda, en hombres (65), perros (65) y cobayos (17) (65). Esto nos hace pensar, que como mecanismo compensador contra la acción nociva de la hipoxia, habría un aumento de acetilcolina, como una parte del mecanismo general de adaptación del organismo. A propósito, recordemos también la tendencia del andino a la bradicardia y a la vagotonía, el que podría tener una mayor cantidad de acetilcolina en su organismo; o, en su defecto, a igualdad de cantidades entre andinos y costeños, tendría una mayor acción en aquellos, por aumento en la sensibilidad de los órganos efectores, para responder en presencia de ella. Esta suposición no es tan improbable, ya que Monge en 1927 (38) decía: "Es de presumir se operen algunas reacciones tisulares desconocidas hasta ahora y que quizá constituyan el fondo de la aclimatación..." Otros investigadores (43), principalmente Hurtado (27) entre nosotros, han atribuido también al nivel tisular, el secreto de la adaptación y aclimatación a las grandes alturas. Se trataría de cambios enzimáticos, en procura de una utilización más eficiente del oxígeno, como una ayuda en el proceso adaptativo para poder equilibrar su menor saturación arterial en oxígeno; así los valores encontrados por Hurtado y col. (31) en Lima y Morococha (altitud 4.540 mt.) son de 97.9% y 81.0%, para el hombre. Recordemos que la acetilcolina al actuar sobre la célula efectora, lo hace en relación a la sustancia receptora, que se ha dado en considerar como una enzima o una porción de ella.

Mayor cantidad de acetilcolina, puede haber por una mayor formación de ella en los hombres y animales de altura; y en lo que respecta a una menor destrucción, los hallazgos de López Pizarro (34), descartan esta posibilidad. Por el método potenciométrico encuentra igual actividad colinoesterásica plasmática y acetilcolinoesterásica globular, en idénticos volúmenes, en el hombre de Lima y Morococha. Raduco Thomas (54) de Ginebra (altitud 400 m.) ha dosado por los métodos manométrico y electrotitrímico, la colinoesterasa en cobayos, encontrando que la colinoesterasa plasmática corresponde a una pseudocolinoesterasa, aunque hay pequeñas cantidades de acetilcolinoesterasa y en los eritrocitos la mayor parte es acetilcolinoesterasa, habiendo una pequeña proporción de pseudocolinoesterasa. Para el primero, la relación es aproximadamente 8/2, y del segundo 7/2.

Por el contrario la conclusión de López nos hace suponer, una mayor existencia de acetilcolinoesterasa en la altura, con un aumento en

la destrucción de acetilcolina, directamente proporcional. En efecto, recordemos que las investigaciones de la Escuela Médica Peruana (37) (43) (31) (61) (28) y de otros países, demuestran el aumento del volumen total de sangre; del hematocrito, 59,7 según Hurtado y col. y 59,9 según Monge Casinelli y col. para el hombre de Morococha; la policitemia (38) (23) (30) (28) (43) (61) y el alza de reticulocitos proporcional a la altitud (Lima 0,5%; La Oroya 0,8%; Morococha 1,5% (30) (34), que como se sabe son elementos más ricos en acetilcolino-esterasa que el hematíe normal. Luego se podría deducir, que al haber condiciones que favorecen una mayor destrucción de acetilcolina en la altura, ésta al ser inyectada, sería menos tóxica.

Existe asimismo el hecho del aumento del tiempo de circulación en la altura (37) (60) (61) y dado que la acetilcolina comienza a ser destruida durante su transporte por la sangre, por la enzima mencionada (70), que actúa rápidamente. Una idea de la velocidad de su destrucción la dan Mason y Gesell (16), que al inyectarla en la vena yugular, ocluida durante 5 segundos, observaron que perdía mucho de su acción depresora sobre la presión arterial y si la oclusión demoraba 60 segundos, ya no se manifestaban sus efectos.

La capacidad del andino para tolerar grandes dosis de atropina, hasta de 3,5 mg., sin presentar síntomas clínicos, como probaron Monge y Pesce (43) y Aste (2); es difícil de interpretarla, tanto aisladamente, cuanto a la acción acetilcolínica que no socupa, y ello debido a que la intoxicación atropínica, entrañaría dos tipos de fenómenos: el central y el periférico.

Todas esas observaciones han sido hechas en el hombre o en animales distintos al cobayo, por lo que no pueden aplicarse en forma absoluta en la discusión de nuestro problema, si bien nos dan una pauta de comparación.

Inversamente, entre los factores que inducían a pensar en una mayor acción letal de la acetilcolina para los cobayos de la altura, estaba el trabajo experimental de Stewart y col. realizado en perros normales e hipóxicos crónicos (más de 6 semanas) (63). Estimula el nervio vago y observa, entre otras cosas, que fibrilación ventricular no ocurre en ninguno de los animales normales y sí en un tercio de los hipóxicos crónicos. Más aún, si sabemos que el cobayo es uno de los animales más sensibles para presentar fibrilación ventricular, en condiciones experimentales (15).

Una de las conclusiones de Aste (2), al estudiar las modificaciones del pulso, después de una prueba de eficiencia cardíaca, es la si-

guiente: "La reacción normobradicárdica en la costa es de corta duración y poco acentuada; mientras que en la sierra es prolongada y muy acentuada". Si atribuímos este diferente grado de respuesta, a una mayor sensibilidad del efector, para reaccionar a la acción acetilcolínica, inseparable de la función vagal; podremos suponer que habrá también una mayor sensibilidad para la acetilcolina exigua, que daría reacciones tóxicas más intensas en el andino, en comparación con el costeño.

Por otro lado, hay un hecho difícil de interpretar y más aún referirlo como factor participante en la discusión que planteamos. Se trata de que Wearn y col. y Roberts y col. afirman que cada corazón hipertrofiado, tiene una imperfecta circulación intrínseca, en proporción a su grado de hipertrofia. A largo plazo, asimismo, la hipertrofia llega a ser perjudicial para el organismo. Ahora bien, los corazones andinos son hipertroficados (60) (61) (51), incluso el cuy (46), que también lo es en condiciones de hipoxia aguda (60); y como dice Rotta (61), hasta ahora no hay nada que demuestre que el corazón andino no siga la misma regla. Podemos preguntarnos: ¿Interviene esta hipertrofia facilitando la muerte del animal, al inyectar acetilcolina? No podemos responder, como tampoco si el mayor tamaño del corazón tiene algún papel en el mecanismo del escape vagal, sea en uno u otro sentido.

No hay acuerdo unánime respecto al efecto de la hipoxia sobre la estimulación vagal. Así, unos, estimulando el vago, no pueden obtener paro cardíaco en perros, si la oxigenación es normal; si cuando había hipoxia y más marcadamente si se añadía al factor hipercapnea (62). Otros señalan que la hipoxia disminuía el efecto de la estimulación vagal. Citamos también el hecho experimental que la hipercapnea aumenta el paro cardíaco vagal e nel perro normal, no tiene este efecto en el perro hipoxico crónico (63).

Sabemos la influencia del pH, del dióxido de carbono (CO_2) y del potasio sobre la actividad acetilcolínica y de los otros iones sobre el corazón; por lo que juzgamos conveniente anotar que los trabajos de Hurtado y col. (31) no han encontrado diferencias significativas en las cifras halladas entre los hombres de Lima y Morococha. De este modo podemos observar que el pH es de 7,390 y 7,413, respectivamente. La proporción en el plasma de CO_2 combinado, CO_2 disuelto es: 20,0/1 en Lima y 19,1/1 en Morococha. Hagamos la salvedad de que estos valores no son aplicables al cobayo, pero que dan una idea, de no existir diferencias significativas entre nativos de la altura y costeños.

Hemos consignado algunos hechos experimentales y también algunas observaciones practicadas en hombre y animales de las alturas. En el terreno hipotético, hemos dado intervención a una serie de factores, que influenciarían en uno u otro sentido, la acción letal acetilcolínica, sin que sepamos en qué proporción interviene cada uno y si es que realmente se manifiestan, para llegar a darnos la misma dosis letal media, en cobayos nativos del llano y de las altiplanicies. Hay una realidad que se hace presente ante nuestros ojos, es la carencia de datos experimentales a este respecto, y que nos hace ver la necesidad de proseguir estos estudios, que parecen a muchos tan simples a primera vista, y que son, no sólo especulativos, sino de positiva utilidad práctica.

CONCLUSIONES

I.— Con el fin de proporcionar datos que sirvan al posterior esclarecimiento de las modificaciones fisiológicas de la altura, se hace el presente trabajo.

II.— Se trata de precisar, si existen o no diferencias significativas en la resistencia a la acción letal de la acetilcolina endovenosa, entre cobayos nativos de Lima y La Oroya.

III.— Así determinamos la "dosis letal media" (DL50) de acetilcolina endovenosa, en cobayos, por primera vez en el país y que tampoco hemos encontrado descrita en la literatura a nuestro alcance.

IV.— Usando el método del papel logarítmico probit de Miller y Tainter, las cifras obtenidas fueron:

En Lima: DL50 = 17,6 mg/Kg; ES \pm 2

En La Oroya: DL50 = 15 mg/Kg; ES \pm 1,47

Siendo el valor de la diferencia: 2,6, no significativo estadísticamente.

V.— Se discuten los factores que intervendrían, sin poder dar una explicación precisa, por carencia de trabajos experimentales al respecto, destacándose la importancia de mayores investigaciones.

BIBLIOGRAFIA

- 1.— APAZA MURGUÍA, F. : Excreción de 17 cetoesteroides neutros en conejos adultos, aparentemente normales. Tesis de Bachiller en Medicina Veterinaria. Lima, 1954.

- 2.— ASTE SALAZAR, H. : Contribución al estudio de la fisiología del hombre andino; exploración funcional del sistema nervioso extracardíaco del andino. *Anales de la Facultad de Medicina*. Lima 19: 226; 1936.
- 3.— BACK, Z. M.; CHEYMOL, J.; DALLEMAGNE, M. J.; HAZARD, R.; LA BARRE, J.; REUSE, J. J.; WELSCH, M. : *Pharmacodynamie Biochimique*. Masson et Cie, Editeurs, Paris 1954.
- 4.— BATTISTINI, V. C. : Introducción al estudio de las colinoesterasas en nuestro medio. Tesis de Bachiller en Medicina. Lima 1953.
- 5.— BOVET, D. y BOVET-NITTI : *Structure et Activité pharmacodynamique des Médicaments du Systeme Nerveux Végétatif*. Editions S. Karger S. A. Bale. Paris 1948.
- 6.— BURN, J. H. : Acetylcholine and the heart beat. *The Lancet* : June 13, 1161; 1953.
- 7.— BURN, J. H.; FINNEY, D. J.; GOODWIN, L. G. : *Biological standardization*. Oxford University Press, London 1952.
- 8.— CABIESES MOLINA, F. : Comunicación personal.
- 10.— CALDERON VERA, A. : Algunas variaciones funcionales y orgánicas, en conejos aparentemente normales y tratados con A.C.T.H. a nivel del mar y en la altura. Tesis de Bachiller en Medicina Veterinaria. Lima 1955.
- 11.— CLARK, R. T.; CHINN, H. I.; ELLIS, J. P.; jr.; PAWEL, N. R. y CRISCUOLO, D. : Tissue respiratory studies during altitude and Cold exposure. *Am. J. Physiol* : 177, 207; 1954.
- 12.— CUBA CAPARO, A. : Policitemia y mal de montañas en corderos. *Rev. de la Facultad de Medicina Veterinaria* : 6, 5; Lima 1951.
- 13.— CHEYROL, J. y LEVASSORT, C. : Chlorpromazine et résistance a l' hypoxe. *Bulletin Societe Chimiq. Biologique* : 53, 831; 1953.
- 14.— CHOH HAO, Li y HERRING, V. V. : Effect of adrenocorticotropic hormone on the survival of normal rats during anoxia. *Am. J. Physiol.* : 143, 548; 1945.
- 15.— DUKES, H. H. : *The physiology of domestic animals*. Comstock Public. Co. New York, 1943.
- 16.— MASON, A. y GESSELL, R. : Extra and intracellular ch and the stimulating action of acetylcholine. *Federation Proc.* : 1, 1; 1942.
- 17.— FRANCK, C.; GRANDPIERRE, R.; ARNOULD, P. y DIDON, P. : La résistance du cobaye á l' anoxémie après administration d' acetylcholine. *Societe de Biologie de Nancy*. 142, 79; 1948.
- 18.— FROMMEL, Ed. y PIQUET, J. : L' inhibition de la cholinoestérase au cours du choc opératoire est-elle réellement une des causes du choc? *Jour. Suisse de Med.* : 76, 456; 1946.
- 19.— FUENTES ZANABRIA, P. : La colinoesterasa plasmática en niños distróficos y eutróficos. Tesis de Bachiller de la Facultad de Medicina. Lima, 1955.
- 20.— GARB, S., en : *Pharmacology in Medicine*. Editor : Drill V. A.; McGraw-Hill-Boon Comp. Inc. New York, 1954.
- 21.— GARCIA CHAVEZ, E. : Acción de la acetilcolina sobre la potasemia. Tesis de Bachiller en Farmacia. Lima, 1953.

- 22.— GOODMAN, L. y GILMAN, A. : The pharmacological basis of therapeutics. II ed. Editor : The MacMillan Company. New York, 1955.
- 23.— GRANDJEAN, E. : Physiologie du Climat de la Montagne. J. de Physiol. : 40, 51A; 1948.
- 24.— GUTIERREZ NORIEGA, C. : Farmacología y sus aplicaciones terapéuticas. Editorial Lumen. Lima, 1950.
- 25.— HANSEN, E. T.; WORSNIAK, J. J.; GESSELL, R. : Physiological effects of artificially administered acetylcholine and eserine. Federation Proc. : 1, 1; 1942.
- 26.— HOFFMAN, F.; HOFFMANN, E.; MIDDLETON, S. y Talesnik J. : The stimulating effect of acetylcholine on the mammalian heart and the liberation of an epinephrine like substance by the isolated heart. J.A.M.A. 144, 189; 1945.
- 27.— HURTADO, Alberto : Aspectos fisiológicos y patológicos de la vida en la altura. Imprenta Rímac. Lima, 1937.
- 28.— HURTADO, Alberto : Chronic Mountain Sickness. J.A.M.A. 120, 1278; 1942.
- 29.— HURTADO, A.; MERINO, C.; DELGADO FEBRES, E. : La influencia de la anoxemia sobre la actividad hematopoyética. Anales de la Facultad de Medicina : 29, 125. Lima, 1946.
- 31.— HURTADO A.; VELASQUEZ, T.; REYNAFARJE; ASTE, S. H. : Blood gas transport and acid-base balance at sea level and at high altitudes. Informe de Febrero de 1956. No publicado. Gentileza de los doctores : A. Hurtado y H. Aste.
- 32.— INSTITUTO NACIONAL DE BIOLOGIA ANDINA : El estudio de las grandes alturas en las regiones andinas del Perú. Editoria Médica-Peruana, Lima, 1949.
- 33.— LAOS, P. : Acción de la tiamina sobre la acetilcolina. La Crónica Médica : 69, 91; 1949.
- 34.— LOPEZ PIZARRO, M. : Estudio de la acetilcolinoesterasa globular y de la colinoesterasa plasmática, al nivel del mar y en Morococha. Tesis de Bachiller en Medicina. Lima, 1954.
- 34a.— LUDMIR S. : Influencia de la acetilcolina sobre la tiocianemia del conejo. La Crónica Médica : 69, 142; 1952.
- 35.— MILLER LL., G.; TAINTER, M. L. : Estimation of the ED50 and its error by means of Logarithmic-Probit Graph Paper.— Proc. So. Exp. Biol. and Med. : 57, 261; 1944.
- 36.— MACCAGNO FERRERO, V. : A propósito de cien colecistectomías. Academia Peruana de Cirugía : 8, 17; 1955.
- 37.— MONGE CASINELLI, C.; CAZORLA, A.; WHITTEMBURY, G.; SAKATA Y. y RIZO-PATRON, C. : A description of the circulatory dynamics in the heart and lungs of people at sea level and at high altitudes by means of the dye dilution technique. Acta Physiologica Latinoamericana; 5, 198; 1955.
- 38.— MONGE M., Carlos y col. : La enfermedad de los Andes. Anales de la Facultad de Medicina : 11, 1. Lima, 1928.

- 39.— MONGE M., Carlos; ENCINAS, E.; CERVELLI, M. : PESCE, H.; VILLAGARCIA, V. y asociados Inst. de Biología y Patología Andina. Circulación : primera memoria : el pulso, ritmo y forma. Anales de la Facultad de Medicina : 17, 1; 1935, Lima.
- 40.— MONGE M., Carlos y Col. : Fisiología andina : circulación segunda memoria : el rendimiento cardiovascular al esfuerzo en el Hombre de los Andes. Anales Facult. de Medicina : 17, 29; Lima, 1935.
- 41.— MONGE Carlos M. y PESCE, H. : Tercera memoria : El sistema nervioso vegetativo del Hombre de los Andes. Anales Facultad de Medicina : 17, 43. Lima, 1935.
- 42.— MONGE M., Carlos; MEJIA, J.; PALTI, V.; SALAS, A. : Sobre algunos puntos de la bioquímica de la sangre, considerada como un sistema fisicoquímico en las alturas habitadas del Perú. Imp. Gil. Lima, 1939.
- 43.— MONGE, Carlos M. : Chronic Mountain Sickness. *Physiological Reviews* : 23, 166; 1943.
- 44.— MONGE, Carlos M. : Biología andina y de altitud. Informe a la Facultad de Medicina. Lima, 1947.
- 45.— MORI CHAVEZ, P. : Anatomía e histología del aparato tráqueo-bronquio-pulmonar del cuy. Anales Facultad de Medicina : 17, 173; Lima, 1935.
- 46.— MORI CHAVEZ, P. : Contribución al estudio del soroche experimental. Manifestaciones pulmonares del cuy en el soroche agudo. Anales Facultad de Medicina : 17, 126; Lima, 1935.
- 47.— MORI CHAVEZ, P. : Manifestaciones pulmonares del conejo del llano transportado a la altura. Anales Facultad de Medicina : 19, 137. Lima, 1936.
- 48.— NOTHE, P. H.; ESSEX, H. E.; BARNES, A. R. : The effect of the intravenous injection of acetylcholine on the electrocardiogram of the dog. *Staff Meetings of the Mayo Clinica* : 14, 348; 1939.
- 49.— OBRINK, K. J.; ESSEX, H. E. : Chronotropic effects of vagal stimulation and acetylcholine on certain mammalian hearts with special reference to the mechanism of vagal escape. *Am. J. Physiol.* : 174, 321; 1953.
- 50.— PALTI, V. : Calcemia y sistema nervioso vegetativo en las altiplanicies andinas. Tesis Bachiller Facultad de Medicina. Lima, 1938.
- 51.— PEREZ ARANIBAR, E. : Contribución al estudio del corazón del hombre de la altura. Tesis de Doctor en Medicina. Lima, 1948.
- 52.— PROSSER LADD, C. y otros : Comparative animal physiology. Saunders Comp. Philadelphia, 1952.
- 53.— RAVINOVICH, K. R. : Sulfatiazol a nivel del mar y en la altura. Efectos de su ingestión por el hombre. Tesis Bachiller en Medicina. Lima, 1946.
- 54.— RADOUCO-THOMAS, C.; FROMMEL, Ed. y RADOUCO-THOMAS, S. : Médication anti-épileptique et activité cholinestérasique. *Helv. Physiol. Acta* 13, 1; 1955.
- 55.— RAJSIC, R. y ARNOULD, P. : Modifications de la résistance au déficit ex oxygène chez le cobaye après administration de centropneine et de chlorpromazine. *C. R. Sc. Biologie* : 148, 137; 1954.

- 56.— RIESSER, O. : Farmacología y Terapéutica musculares. Ediciones Morata, Madrid, 1951.
- 57.— RIKER, V. F. en *Pharmacologie in Medicine* : Editada por Grill V. A. Mc. Graw-Hill-Book Comp. Inc. New York, 1954.
- 58.— RODRIGUEZ RECARTE, J. C. : Acción del A.C.T.H. sobre la excreción urinaria de 17 cetoesteroides neutros totales y sobre la relación adreno-testicular en la costa y altitud Tesis Bachiller de Farmacia. Lima, 1955.
- 59.— ROTHLIN, M.; BERDE, B. : Aufbau und Funktionsprinzipien des vegetativen Nervensystems. *Arztliche Monatshefte. Jahrgang 5, 1; 1949-1952.*
- 60.— ROTTA, A. : La circulación en las grandes alturas. *Anales Facultad de Medicina* : 21, 285; 1938, Lima.
- 61.— ROTTA, A. : Physiologic condition of the heart in the natives of high altitudes. *Amer. Heart J.* 33, 669; 1947.
- 62.— SLOAN, H. E. : The vagus nerve in cardiac arrest. The effect of hypercapnea, hypoxia, and asphyxia on reflex inhibition of the heart. *Surgery, Gynecology and Obstetrics* : 91, 257; 1950.
- 63.— STEWART, B. D.; VIRTUE, R. W. y SWAN, H. : Cardiac arrest and ventricular fibrillation. Experimental study in dogs with chronic hypoxia. *A.M.A. archives of surgery* : 66, 703; 1953.
- 64.— THORN, G. W.; CLINTON, M. Jr.; DABIS, B. M. y LEWIS, R. A. : Effect of adrenal cortical hormone therapy on altitude tolerance. *Endocrinology* : 36, 381; 1945.
- 65.— VELASQUEZ, Lorenzo B. : Terapéutica con sus fundamentos de Farmacología experimental. Tomo I, VII Ed. Editorial Científico-Médica. Barcelona, Madrid, Lisboa, 1955.
- 66.— VERZAR, F. : Höhenklimaforschungen des Basler Physiologischen Institutes. Bann Schwabe Co. Basilea, 1945.
- 67.— VILLANUEVA, N. A. : Determinación biológica de la colinoesterasa. *La Crónica Médica* : 66, 117; 1949.
- 68.— YOUNG, G. Jr.; SEALY, W. C.; HARRIS, J. y BOTWIN, A. : The effects of hypercapnea and hypoxia on the response of the heart to vagal stimulation. *Surgery, gynecology and obstetrics* : 93, 51; 1951.
- 69.— ZAPATA ORTIZ, V. : Farmacología del sistema nervioso Vegetativo. *Revista de los Estudiantes de Medicina* : 8, 3; Lima, 1954.
- 70.— WESCON, W. C. en *Pharmacologie in Medicine* : Editada por Drill V. A. Mac. Graw-Hill-Book Comp. Inc. New York, 1954.
- 71.— AUGSBERGER, A. : Hilfsmittel für Reihenversuche. *Klin. Wschr* : 20, 887; 1941.
- 72.— SCHALCH and GEIGER : Comunicación personal a Fernández Enrique V.