

La Estimulación Suprarrenal por la Anoxemia Aguda expresada en la Variación de los Eosinófilos Circulantes

TRABAJO DE LA CATEDRA DE CLINICA MEDICA Y DEL INSTITUTO
DE BIOLOGIA ANDINA

Director: Prof. Carlos Monge M.

POR JACOBO L. BRENER CUKIER *

INTRODUCCION

Los problemas de la vida en la altitud han suscitado interés y preocupación, e inducido a múltiples estudios a investigadores peruanos y extranjeros. El anhelo de comprensión ha sido tanto del hombre que viviendo allí tiene en equilibrio su fisiología frente al rigor ambiental (18-24), como del que habitando a nivel del mar asciende a las altas montañas, siendo sometido así a una "agresión anóxica", contra la que tiene que luchar (18).

Con el desarrollo de nuevas técnicas ha sido posible medir en el hombre ciertos cambios en la función adrenocortical y que caen aún dentro de límites fisiológicos (6). Esto ha hecho posible el conocimiento de la intervención de esta glándula en las situaciones en que el organismo se ve expuesto a agentes que le exigen esfuerzo, (stress) (15).

También la anoxia aguda causada por la ascensión a la altitud es una situación de emergencia y que por lo tanto exige de la glándula suprarrenal una mayor actividad.

Hemos tratado de observar esto último por la variación del número de eosinófilos circulantes, que es una de las mejores pruebas para investigar la función suprarrenal en el hombre.

* Agradezco a los Profesores Honorio Delgado, Alberto Hurtado, Benjamín Alhalel y Manuel Bocanegra por sus consejos en la elaboración de este trabajo y al Dr. Carlos Monge Cassinelli que nos facilitó el Laboratorio de Investigaciones de la Cátedra de Clínica Médica del Profesor C. Monge.

Para completar el estudio hemos tratado de observar los valores normales de eosinófilos en nuestro medio (a nivel del mar) y su fluctuación en un período de 4 horas, comparándolo con la variación en la altitud.

PRIMERA PARTE

UBICACION DEL RECUENTO DE LO EOSINOFILOS ENTRE LAS PRUEBAS DE FUNCION SUPRARRENAL

Desde que se tiene un mejor conocimiento de la acción de algunas hormonas suprarrenales y de la hormona adrenocórticotropa hipofisaria que estimula su secreción, el estudio de estas glándulas se hace intensivamente.

Debido a las grandes repercusiones que sobre los procesos metabólicos producen las hormonas suprarrenales, los dosajes de diferentes componentes de la sangre y de la orina pueden ser un reflejo relativo de la actividad adrenal. Las diferentes hormonas suprarrenales en líneas generales pueden ser agrupadas desde un punto de vista fisiológico (no estrictamente químico) en tres tipos hormonales de acción diferente (20).

Tipo A.—Regula el metabolismo salino y acuoso, a través de su acción sobre los riñones (mineralocorticoides de Selye) (35).

Tipo B.—Es anabolizador de proteínas, medianamente androgénico y responsable del crecimiento piloso axilar y pubiano en la mujer (hormona "N" de Albright) (1).

Tipo C.—Estimula el catabolismo protéico, causa significativa neoglucogénesis y está asociado en alguna forma con la resistencia específica o no específica a las enfermedades. Produce linfocitosis y eosinofilia con aumento de las inmunoglobulinas (hormona "S") de Albright (1) y glucocorticoide de Selye (35).

Hasta la actualidad no existe una prueba enteramente satisfactoria para medir la actividad secretora de la corteza adrenal. Sin embargo, se han hecho una serie de índices para evaluar esa

actividad, que siguiendo muy de cerca y casi constantemente a Sayers (33), se los clasifica de la siguiente manera:

1.—*Por las alteraciones en la corteza adrenal.*

A.—*Anátomo-macroscópicamente:* Hay una buena relación entre el peso adrenal y la actividad de esta glándula. En el stress severo, la glándula, además de aumentada de volumen, aparece también de color marrón rojizo, en lugar de amarillo, debido a la pérdida de los lípidos citoplasmáticos.

B.—*Histológicamente:*

1.—Lípidos (con tinción por el Sudán preferentemente, o con algún otro colorante). En general, su baja indica hiper-actividad y la acumulación de lípidos hipoactividad.

2.—Localización de las zonas secretoras:

Glomerular
Fasciculada
Reticular

Las diferentes zonas pueden mostrar una acumulación o baja de lípidos, en grado variable al responder el Stress.

Se observa una respuesta menor en la glomerular al estimular la glándula con ACTH.

3.—Ketosteroides: Los histoquímicos aún no están en condiciones de identificar o localizar a los esteroides en la corteza adrenal.

C.—*Químicamente:*

1.—Colesterol: Cuando la adrenal está inactiva contiene 5% de su peso en colesterol; más que cualquier otro tejido. *Disminuye cuando aumenta la actividad secretora adrenal. En la ausencia de ante-hipótesis, el colesterol adrenal es inerte al stress, y usualmente está en concentración mayor que lo normal.* Este fenómeno,

junto con el hecho de que el colesterol está estrechamente relacionado químicamente a los esteroides corticales, sugieren fuertemente que el colesterol sea un precursor de las hormonas corticales.

2.—Ácido ascórbico: En general hay una relación inversa entre la actividad adrenocortical y la concentración del ácido ascórbico adrenal. En ausencia de la antehipófisis, el ácido ascórbico normal no se afecta por el stress. Su papel en los procesos metabólicos adrenales es desconocido.

3.—Fósforo: La utilidad del fósforo radioactivo como elemento de valor en la investigación de la actividad adrenal aún no está esclarecido; es un problema actualmente en estudio.

II.—*Por las alteraciones en el organismo.*

A.—*Linfocitos*: La determinación de los linfocitos circulantes es un elemento de valor en la evaluación de la actividad adrenocortical. Dougherty y White con sus estudios sobre la acción de la corteza adrenal en relación a los linfocitos (7), han hecho posible su utilización como elemento de prueba. Se observa una linfocitosis en los animales adrenalectomizados y en pacientes con enfermedad de Addison, lo que probablemente refleja un bajo nivel de las hormonas adrenocorticales. Sin embargo, hay que tener en cuenta que pueden producir linfocitopenia los Rayos X, y el Uretano, que tienen una acción linfocitolítica directa. Una descarga esplénica de linfocitos puede oscurecer la linfocitopenia del stress, bajo ciertas condiciones es ésta la probable razón porque la linfocitopenia que se produce después de la inyección de epinefrina es precedida por una linfocitosis (33).

El mecanismo de la linfocitopenia cuando se inyecta hormona adrenotrófica parece consistir en una *baja en la liberación de un número adecuado de linfocitos hacia la circulación* (7).

B.—*Eosinófilos*: La observación de que el número de eosinófilos circulantes es regulado por la actividad del sistema adrenocórticopituitario, ha hecho posible un método muy simple para *avaluar la función adrenocortical* (33), (39), (32). *La prueba*

de los eosinófilos se destaca como el mejor índice de la función suprarrenal (33). Después de la inyección de ACTH, la caída en el número de eosinófilos, expresada en porcentaje, es aproximadamente doble que el de los linfocitos; la respuesta de los eosinófilos es menos variable que la de los linfocitos. Se pueden contar directa y rápidamente sin la necesidad de un recuento diferencial; y con la secreción continuada de esteroides persisten bajos, mientras que los linfocitos después de una caída inicial se elevan pronto a su nivel anterior (32).

Diferentes tipos de stress dan lugar a eosinopenia, enumeraremos algunos: la anoxia inducida (26), (15); la inyección de adrenalina (5); la electroestimulación no convulsiva (38); en la terapia electroconvulsiva (2), (12), (6); en situaciones de hipoglicemia (27), (3); después de traumas quirúrgicos (32), (11); en hiperglicemias (3); en el infarto de miocardio (8), (11); en la exposición al frío (21); en los estímulos psicológicos intensos (21).

El test de los eosinófilos, como el de los linfocitos, es de utilidad indudable en el diagnóstico de la insuficiencia adrenocortical total o casi total. El valor de este test en relación al compromiso parcial de la glándula suprarrenal aún no está esclarecido; sin embargo Speirs y Meyer (37), concluyen que la prueba de los eosinófilos es capaz de descubrir aún insuficiencias relativas de las glándulas adrenocorticales en ratones.

Sin embargo los eosinófilos son influenciados por factores diferentes a los de la secreción adrenal. Así el número de eosinófilos de los addisonianos se mantiene fijo y no baja con el ACTH o inyectando 0.3 mgr. de epinefrina, pero en cambio se produce una eosinopenia cuando estos enfermos hacen una complicación infecciosa. También ocurre una eosinopenia en los addisonianos cuando se les inyecta mayor cantidad de epinefrina; 1.5 mgr. (32). En sujetos psiconeuróticos hay quienes afirman que existe diferencia en la respuesta al estimularlos con ACTH (28), (30), pero otros no lo confirman (36).

A la inversa, en procesos alérgicos, cuando la producción excede la posibilidad de destrucción de eosinófilos, el porcentaje de caída en sujetos con glándulas suprarrenales normales es inferior a lo que comunmente se observa (39). Quizá también suceda lo mismo en sujetos parasitados y no como lo presenta Hernández (13).

El hallazgo de una eosinopenia es de por sí una indicación de la secreción adrenohormonal grandemente aumentada (35). Para esta regla hay una sola excepción: una muy marcada eosinopenia puede encontrarse en caso de aplasia medular (32).

De todas maneras el test de los eosinófilos es la medida más simple y práctica de la actividad suprarrenal (33).

C.—*Metabólicas*: La insuficiencia adrenocortical está caracterizada por diversas alteraciones metabólicas que incluyen hipersensibilidad insulínica, poca diuresis después de la administración de agua, deficiente retención de sodio en el ayuno sódico, con aumento del potasio sérico. Pero estas pruebas no sirven para determinar el grado de actividad adrenocortical en un organismo con un sistema pituitario-adrenal intacto.

La deficiente alza de la relación ácido único-creatinina, después de inyectar ACTH indica una insuficiencia adrenocortical.

III.—*Esteroides urinarios.*

En la orina humana se encuentran sustancias que muestran ciertas propiedades de las hormonas corticales. Se les llama "corticoides", porque son sustancias no claramente identificadas, pero que tienen una o más características de las hormonas corticales. Se les divide en:

A.—*Biocorticoides urinarios*: Son los que tienen propiedades biológicas similares y que son determinadas por métodos también biológicos. Se les investiga por intermedio de dos propiedades:

- 1.—La protección al frío "CP".
- 2.—El depositar glucógeno hepático "LGD".

Los 11 oxisteroides parecen ser los responsables de estas propiedades.

El dosaje de los biocorticoides excretados es relativamente un buen índice de la actividad adrenocortical.

B.—*Quimicorticoides urinarios.*—Para su estudio se emplean métodos donde se aprovecha de la solubilidad y de las caracterís-

tas químicas de los esteroides corticales. Las siguientes reacciones químicas se aplican a las diferentes fracciones extraídas de la orina por procedimientos especiales y que contienen los lípidos neutros:

- 1.—La reducción del ácido fosfomolibdico "PRL".
- 2.—La reducción del cobre "CRL".
- 3.—La generación de formaldehido "FL".

Los quimicorticoides se hallan en la orina en mayor concentración que los biocorticoides. (Estos determinados por "LGD" y expresados como equivalentes de la cortisona), debido a que, probablemente, sustancias biológicamente inactivas pueden aparecer en la orina como resultado de la degradación de los córticoesteroides activos, en el hígado y en otros tejidos. *La desoxicorticosterona*, si está presente en la orina, sería incluida en los quimicorticoides y no en los biocorticoides.

Hay una buena relación entre los quimicorticoides urinarios y la evaluación de la actividad adrenocortical.

Hay que recordar, sin embargo, que los esteroides de origen no adrenal contribuyen a la cantidad total de quimicorticoides en la orina. Los métodos de investigación son relativamente simples y convenientes para la determinación rutinaria en el Laboratorio Clínico.

C.—17-Ketoesteroides: En los sujetos normales, y bajo condiciones ambientales óptimas, la actividad adrenocortical es responsable de los dos tercios de los 17-Ketoesteroides excretados en el hombre y del total de los 17-Ketoesteroides excretados en la mujer. Los testículos contribuyen con el tercio restante en el hombre.

Los 17-Ketoesteroides urinarios son considerados como un índice de la actividad androgénica de los testículos y de la corteza adrenal y los "corticoides" como un índice de la secreción de las hormonas corticales.

Mientras que Mason y Engstrom (23), dicen que "en el caso individual puede no ser posible descubrir un cambio en la función (córticoadrenal) por medio de una variación en los 17-Ketoesteroides urinarios", Sayers (33), concluye que "los 17-keto-

teroides urinarios deben ser rechazados como índice de la actividad adrenocortical, no por falta de certeza en cuanto a su significación fisiológica, sino por la falta de relación entre los 17-ketosteroides excretados y la actividad adrenocortical, medida por otros métodos".

IV.—Corticoides sanguíneos.

A.—*Biocorticoides sanguíneos*: Cantidades apreciables de hormona cortical se encuentra en la sangre de la vena adrenal. En la sangre periférica, con los métodos actuales no es posible descubrirlos.

B.—*Quimicocorticoides sanguíneos*: Los métodos empleados en el dosaje de estos elementos en la orina, no son aplicables aquí, hasta el presente.

Según el análisis que acabamos de hacer, después de los corticoides urinarios son los eosinófilos los que mejor reflejan la actividad adrenocortical, cuando se trata de investigar su función en el hombre.

ALGUNOS CARACTERES QUÍMICOS DE LAS HORMONAS CORTICOADRENALES

"El término genérico de "Esteroides" fué sugerido por Callow y Young en 1936, para el grupo de compuestos biológicamente importantes relacionados a los esteroides vegetales y animales" (23). Los esteroides incluyen a los ácidos biliares, sapogeninas, hormonas sexuales, hormonas adrenocorticales, agluconas ó geninas cardíacas y varios derivados de estas sustancias.

Todos tienen en común un núcleo de 4 anillos que consisten de un anillo de ciclopentano unido a un sistema anular fenantreno-hidrogenado y llamándose "ciclopentano-fenantreno". La mayoría de los esteroides tienen grupos metilos los que ordinariamente se señalan por una pequeña raya.

La mayoría de los esteroides aislados de la glándula adrenal pueden ser considerados como derivados del Allopregnane o $\Delta 4$ pregnene. La fórmula estereoquímica y el sistema de numeración es como está en la Fig. N° 1.

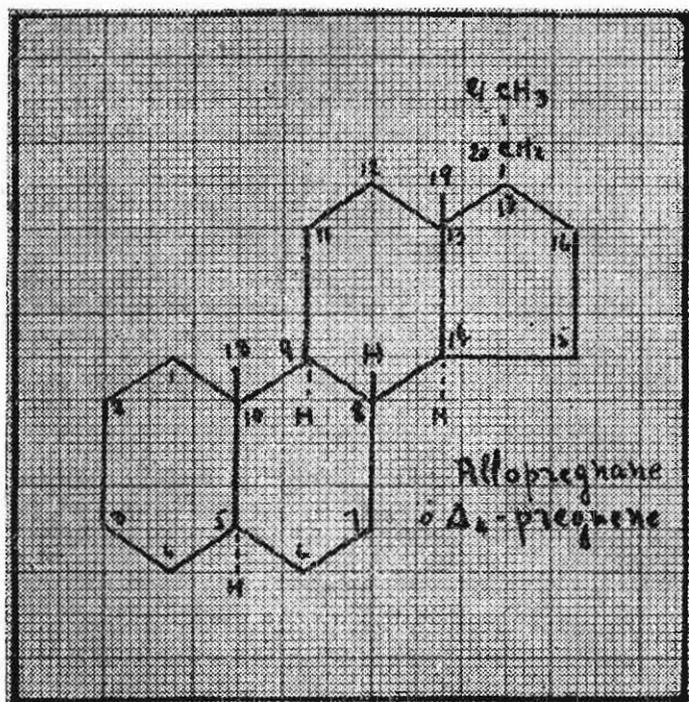


Fig. N° 1

Según ciertas posiciones de los grupos hidróxilo caben dos estereo-isómeros. Estos se han denominado: α y β ; el isómero α se traza con una línea discontinua y se considera ubicado debajo del plano del anillo considerado. El isómero β se representa por una línea continua y es considerado como colocado por encima del plano del anillo.

Los esteroides corticales tienen ciertos caracteres que es interesante señalar (34):

1.—Tienen una cadena lateral de 2 átomos de Carbono en C 17.

2.—Un grupo cetónico α , β insaturado es aparentemente ventajoso, pero no indispensable, ya que todos los corticoides activos lo poseen.

3.—Un grupo hidroxílico o acetóxico en C₁₇ es beneficioso, como lo muestra el hecho de la desóxicorticoesterona en relación a la progesterona.

4.—Un Oxígeno en C_{11} , en forma hidroxílica o cetónica ha probado ser indispensable para los glucocorticoides.—Su importancia se nota al comparar la corticoesterona con la desoxicorticoesterona, ya que la última difiere de la primera, únicamente en que le falta el oxígeno alcohólico en C_{11} . Esta pérdida conduce a la desaparición de la actividad glucocorticoide en la desoxicorticoesterona, aunque éste compuesto, es altamente activo en sus efectos mineralocorticoides.

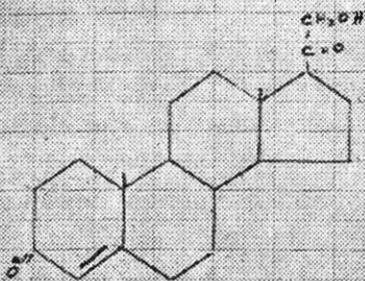
En la página que sigue figuran algunas hormonas importantes de la corteza adrenal con sus respectivas fórmulas.

De los esteroides corticales, aquellos que poseen un átomo de oxígeno en C_{11} y C_{17} (los llamados 11-17 oxisteroides) producen por un mecanismo aún no conocido una caída en la cantidad de los eosinófilos circulantes (32).

MECANISMO DE ACCION DE LA ANOXIA SOBRE LAS GLANDULAS SUPRARRENALES

Para sernos más fácil discutir en alguna forma la acción de la anoxia sobre las glándulas suprarrenales, transcribiremos previamente un esquema de Pincus (29), ligeramente modificado. (Ver pág. siguiente).

“Las evidencias indican que el ACTH es liberado por un neurohumor del hipotálamo. El ACTH es el único agente conocido que acelera la liberación de hormonas adrenocorticales (ACH), encima del nivel basal de reposo. Las hormonas corticales ejercen regularmente una acción negativa sobre la pituitaria y quizá también sobre el Sistema Nervioso Central. La ACH liberada es metabolizada en parte a 17-Ketosteroides y corticoides, los que aparecen en la orina. Los órganos finales son: el tejido linfoide y también los músculos, desde que el Sodio y el Potasio contenido en los músculos y en el cerebro son controlados en parte por el ACH. Los riñones con sus modificaciones en el umbral de excreción para los esteroides, pertenecen también al rectángulo rotulado; órganos finales”.



DESOXICORTICOSTERONA ("DOC")

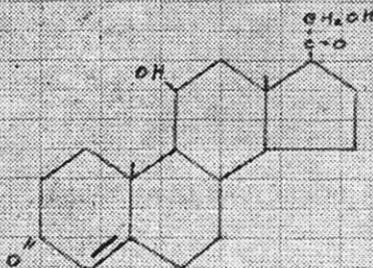
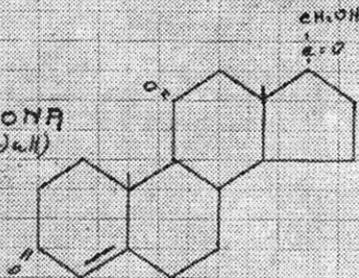
$C_{21}H_{30}O_3$

Δ_4 -Pregnene-21-ol-3,20-dione

DEHIDROCORTICOSTERONA

$C_{21}H_{28}O_4$ (Comp. A de Kendall)

Δ_4 -Pregnene-21-ol-3,11,20-triona



CORTICOSTERONA

$C_{21}H_{30}O_4$ (Comp. B de Kendall)

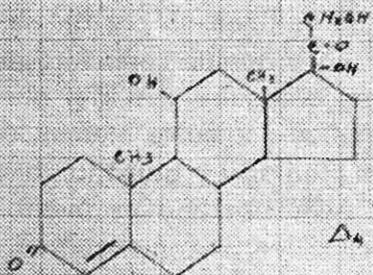
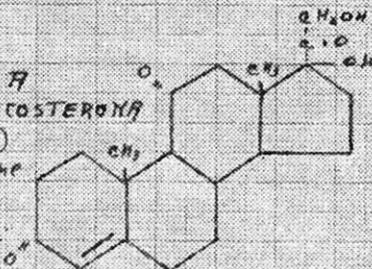
Δ_4 -Pregnene-11(1)-21-diol-3,20-diona

CORTISONA

17-HIDROXI-11-DEHIDROCORTICOSTERONA

$C_{21}H_{32}O_5$ (Comp. E de Kendall)

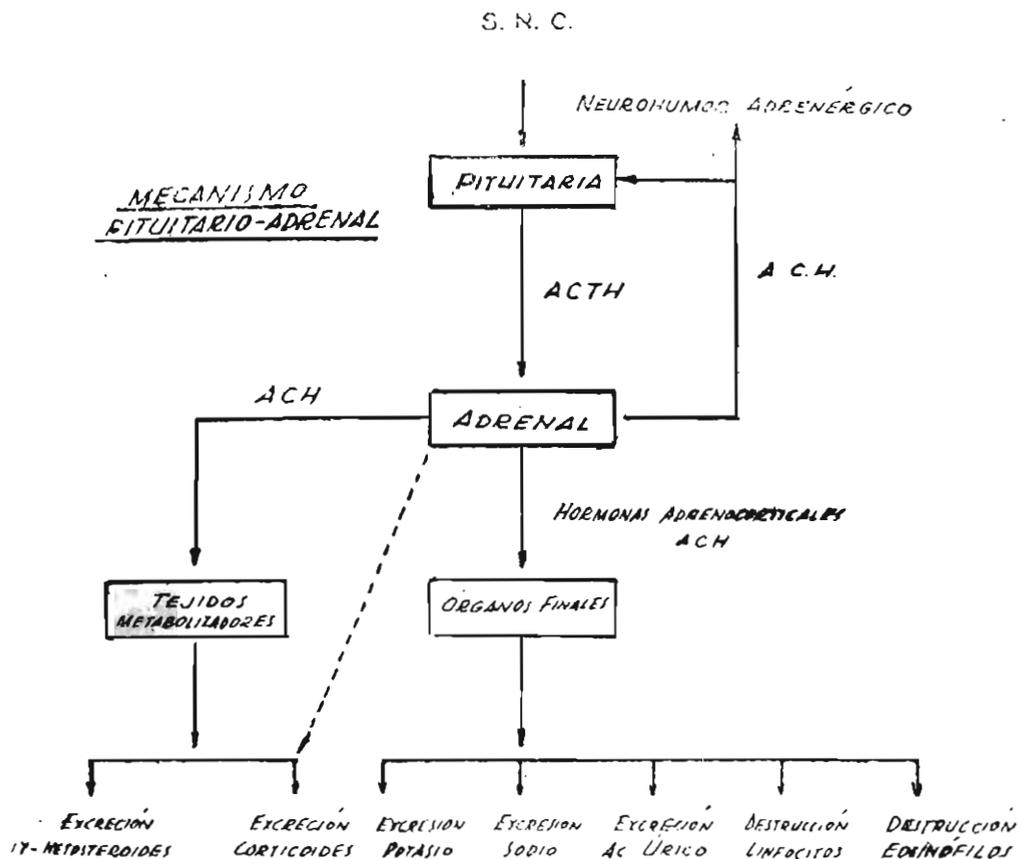
Δ_4 -Pregnene-17(17),21-diol-3,11,20-triona



17-HIDROXICORTICOSTERONA

$C_{21}H_{30}O_5$ (Comp. F de Kendall)

Δ_4 -Pregnene-11(1),17(17),21-triol-3,20-diona



ESQUEMA DE PINCUS (29), LIGERAMENTE MODIFICADO

La baja tensión de Oxígeno provoca una hipersecreción hormonal de la médula y de la corteza adrenal. La manera como la disminución del Oxígeno actúa para provocar una hipersecreción de la médula y de la corteza suprarrenal aún no está definitivamente explicada. Houssay (15), hace una revisión de las ideas al respecto existentes y dice que la anoxia estimula la secreción de adrenalina por intermedio del sistema nervioso central adrenalinosecretor, el que a su vez a través del sistema ortosimpático excita a la médulasuprarrenal. Sin embargo, el problema más difícil reside en el mecanismo de secreción de las hormonas córticoadrenales en la anoxia.

Sabemos que es la córticotrofina hipofisaria la que estimula a la suprarrenal; pero la causa de la descarga de adrenocorticotropina, debida a la anoxia no se conoce bien. "Se ha supuesto que se debe a una acción hipotalámica transmitida por vías nerviosas a la hipófisis, pero éste no es el único mecanismo posible, pues, diversos agentes provocan la hipersecreción de adrenocorticotropina después de cortar las vías nerviosas hipotálamo-hipofisarias, u obrando sobre la hipófisis injertada. Podría suponerse que la acción hipotalámica se transmita por un agente químico que por los vasos llegue a la hipófisis y la estimule" (15). Otra posibilidad podría ser que la producción de adrenocorticotropinas se produzca a través del estímulo de la adrenalina segregada (22), "pero la hipoxia produce descarga de adrenocorticotrofina en ratas sin médula suprarrenal" (15).

También Long (22), sostiene que las hormonas córticoadrenales podrían disminuir en la sangre al ser consumidas y ésto regularía la secreción de la adrenocorticotrofina. "Por fin podría pensarse que la hipoxia obraría en cierto grado sobre la hipófisis misma y provocar la hipersecreción de adrenocorticotrofina, aunque aún no se ha demostrado este mecanismo" (15).

SEGUNDA PARTE

MATERIAL, METODO Y TECNICA

Material de estudio.

Material humano: Los sujetos empleados fueron todos médicos o estudiantes de medicina, cuya edad oscilaba entre los 22 y 32 años. De los 26 sujetos, 17 son mestizos, 8 de raza blanca y 1 amarilla. De todo el grupo sólo 4 fueron del sexo femenino. La gran mayoría eran oriundos de la costa, sólo 2 procedían de Europa (Polonia), pero con una residencia en Lima de más de 15 años; finalmente 3 naturales de la sierra peruana, de altitudes que oscilaban entre 2.000 y 3.500 metros sobre el nivel del mar. Ninguno de los sujetos había ascendido más allá de los mil metros de altitud, desde hacía un año.

Todos eran aparentemente sanos. Entre los antecedentes patológicos se podía anotar, en casi todos, ciertas manifestaciones de alergia, de discreta intensidad, pero que no se hallaban presentes durante los días en que llevamos a cabo el trabajo. También la mayoría presentó parasitosis intestinal en la infancia; en ninguno desde hace 2 años.

Al grupo de personas que fueron llevadas a la altitud les fué practicado además del examen clínico, un estudio radiográfico de pulmones; electrocardiograma y dosaje de hemoglobina, siendo todos los resultados dentro de límites normales. También se hicieron reacciones serológicas (Kahn, Mazzini y Cardiolipina) habiendo resultado positivas en un caso *.

Material de laboratorio: Para el recuento de los eosinófilos hemos hecho uso de las cámaras especiales de Levy con el rayado de Fuchs-Rosenthal. Sus características son: en primer lugar la profundidad de la cámara que es de 0.2 mm. y con un área rayada de 4 por 4 mm. dando una capacidad total de 3.2 mmc. En segundo lugar, el rayado cuyo aspecto en la forma que se ofrece al microscopio es tal como se ve en la Fig. N^o 2, que corresponde

* Consignamos estos datos, gracias a la gentileza del Dr. Ricardo Cassinelli M.

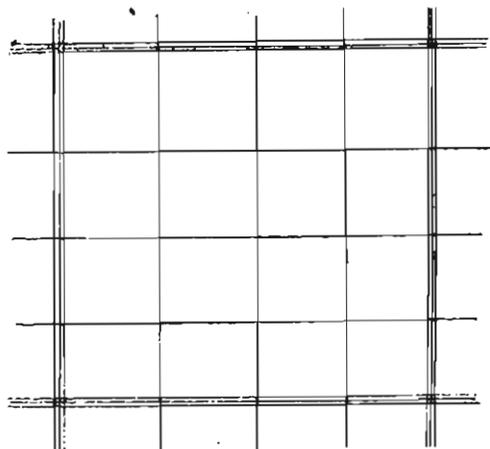


Fig. N° 2

a uno de los 16 cuadrados similares que tiene cada cámara. Cada hematímetro posee 2 cámaras. Tanto los hematímetros como las láminas cubreobjetos son certificadas por el "U.S. Bureau of Standards", y que fueron las mismas que se han empleado en todo el trabajo.

Se emplearon 2 pipetas de Thoma (las mismas que se emplean para la cuenta de leucocitos), también certificadas por el "U.S. Bureau of Standards" y que fueron constantemente las mismas.

El colorante empleado fué la eosina, ideado por Dunger y modificado por Thom (4), en la siguiente dilución:

Eosina acuosa al 2%	5 cc.
Acetona	5 cc.
Agua destilada c.s.p.	100 cc.

Se filtra y debe conservarse en la refrigeradora, pudiéndose emplear hasta un mes después de preparado.

Lugar de estudio.—Lima, que consideramos a nivel del mar, y Morococha que se halla a 4,540 m. sobre el nivel del mar, con una presión barométrica de 453 mm.Hg. La saturación de oxígeno es de 78.9 ± 0.68 %, a las 2 horas del arribo (16).

Método.—El grupo de personas llevadas a la altitud, fueron solicitadas a tener un período de sueño de 7 o más horas, en la noche anterior al viaje. Asimismo, abstenerse de ingerir bebidas alcohólicas y a tener situaciones emocionales intensas. Fueron recogidas en automóvil desde su domicilio, entre las 4 y 5 a.m. el día de la subida, no sometiéndoles a esfuerzos físicos de consideración. A esta hora fué extraída la primera muestra para el recuento, que fué en ayunas, permitiéndoles después tomar el desayuno y alimentos que desearan.

El viaje comenzaba entre los 8 a.m. y 9 a.m. y la llegada a Morococha se efectuaba entre la 1 p.m. y las 2 1/2 p.m. Las muestras de sangre en Morococha fueron extraídas en algunos de los sujetos en la 1a. hora del arribo, en otros en la 2a., en la 3a. o en la 4a. hora. Se practicó después el examen clínico correspondiente.

A los sujetos empleados para el recuento simple de eosinófilos en Lima, les fué extraída la muestra de sangre entre las 8 y 9 a. m., en ayunas, para la investigación de los valores normales. En algunos, se extrajo también una muestra a las 4 horas, simulando un "Test de Thorn" (39), pero sin inyectar ninguna droga. En este caso, inmediatamente después de extraída la primera muestra, el sujeto tomaba su desayuno, tal como se aconseja en dicho test.

Se empleó sangre venosa extraída por lo general de una de las venas de la flexura del codo; se tuvo el cuidado de que *el brazo no estuviera ligado por más de 2' antes de ser punzada la vena.* Se usó *heparina* como anticoagulante, una gota para los 3 a 5 cc. de sangre. Todo el material usado para la extracción y depósito de la muestra estaba estéril y seco. La sangre se empleaba dentro de las 4 horas de la extracción, para el recuento. En este sentido, no hemos observado mayor variación entre el recuento inmediato y el efectuado 4 horas después, en algunas muestras. Está esto de acuerdo con la uniformidad en el recuento de las muestras dejadas hasta 24 horas a la temperatura ambiente o en refrigeradora, hallado por Weiner y Morkovin (40). Esto les hace confirmar el hecho que el eosinófilo es el elemento más resistente de los granulocitos, pudiendo vivir de 10 a 14 días.

El aspecto de los eosinófilos es de un rojo oscuro contra un fondo rosado; los demás leucocitos no se tiñen.

Para los cálculos estadísticos y gráficas hemos seguido los "Métodos Estadísticos" del Dr. A. Hurtado (17).

TECNICA

Hemos hecho el recuento de eosinófilos en cámara, por ser el más exacto, ya que el recuento diferencial, según se refleja en la literatura, deja un gran margen de error (4), (31). El método de coloración empleado ha sido el ideado por Dunger y modificado por Thorn (4). Haremos una breve descripción de la forma cómo hemos procedido.

Después de agitar durante tres minutos la muestra de sangre, se hacía la aspiración en una de las pipetas de Thoma hasta la marca 1.0, aspirándose luego el colorante hasta la marca 11; igual cosa en la otra pipeta. En seguida se agitaban suavemente durante 30 segundos y se llenaban con cada pipeta 2 cámaras, dejándolas reposar durante 3 minutos, haciendo luego el recuento que debía terminar antes de los 20 minutos. En caso que durara más, se hacía un nuevo recuento de la misma muestra en un hematímetro (ya que por lo general el primero estaba dentro del tiempo límite). El recuento se hacía en las 4 cámaras y de todos los eosinófilos allí existentes, multiplicando el resultado por la constante 0.781, lo que arrojaba el número de eosinófilos por milímetro cúbico. Esta constante se obtiene del siguiente raciocinio:

Sabemos que 3.2 mmc. es el volumen de cada cámara y como hemos hecho el recuento en 4 cámaras tendremos un volumen total de 12.8 mmc. Al haberse hecho la dilución al décimo, entonces es 1.28 mmc. de sangre que hemos empleado y para saber cuántos eosinófilos hay en un mmc. debemos dividir la cifra de eosinófilos hallada entre 1.28 o en su defecto multiplicarla por 0.781 que resulta de dividir la unidad entre 1.28.

RESULTADOS OBTENIDOS

1.—*Cifras normales de eosinófilos circulantes.*

Se efectuó el recuento de eosinófilos en ayunas, de 8 a 9 a.m., a 25 sujetos aparentemente normales. Enumeramos las cifras en

el cuadro N° 1. En el cuadro N° 2 se hallan los resultados finales del análisis estadístico de dichas cifras. La representación gráfica se puede observar en el histograma N° 1.

CUADRO N° 1

<i>Cifras normales</i>			
	<i>Eosinófilos por mmc.</i>		<i>Eosinófilos por mmc.</i>
H. P.	70	R. J.	139
M. R.	75	E. H.	141
J. B.	87	C. M.	149
D. S.	95	V. H.	155
M. E.	98	M. Ch.	157
Y. S.	98	J. B.	189
A. S.	100	H. C.	195
J. N.	102	N. G.	284
B. A.	114	J. V.	315
J. V.	121	D. P.	344
R. B.	122	S. S.	366
R. C.	122	I. Z.	372
M. B.	129		

CUADRO N° 2

	<i>Media ± E. S.</i>	<i>Dsv. St. ± E. S.</i>	<i>Coef. Var. %</i>	<i>Val. Ext.</i>
Eos. x mmc.	165.56 ± 18.73	91.63 ± 13.24	55.34	70 — 372

2.—*Variación de los eosinófilos en 4 horas.*

En 16 sujetos gozando de aparente salud, se hizo en ayunas de 8 a 9 a.m. extracción de sangre para un recuento de eosinófilos. Se invitaba entonces al candidato a tomar el desayuno como de costumbre, y a las cuatro horas de la primera extracción se hizo una nueva (antes de haber almorzado) para el segundo re-

cuento. En esto hemos tratado de imitar las condiciones en las que se practica el Test de Thorn *.

En los cuadros Nos. 3 y 4, se demuestran los resultados obtenidos, y en el histograma N° 2, está la representación gráfica.

CUADRO N° 3

	<i>Cifra basal</i> <i>Eos. x mmc.</i>	<i>Después de cuatro hs.</i> <i>Eos. x mmc.</i>	<i>Variación absoluta</i>	<i>Variación porcentual</i>
1	189	196	+ 7	+ 3.70
2	195	201	+ 6	+ 3.07
3	141	138	- 3	- 1.64
4	122	118	- 4	- 3.28
5	102	93	- 9	- 8.83
6	87	77	- 10	- 11.50
7	149	130	- 19	- 12.76
8	70	60	- 10	- 14.29
9	100	85	- 15	- 15.00
10	961	715	-246	- 25.60
11	139	102	- 37	- 26.41
12	75	54	- 21	- 28.00
13	157	100	- 57	- 36.31
14	366	226	-140	- 38.26
15	122	75	- 47	- 38.53
16	114	64	- 50	- 43.86

CUADRO N° 4

	<i>Media ± E. S.</i>	<i>Dsv. St. ± E. S.</i>	<i>Coef. Var. %</i>	<i>Val. Ext.</i>
Var. Porc.	- 18.59 ± 3.89	15.07 ± 2.75	81.06	+ 3.70 α - 43.86

* El Test de Thorn mide "la reserva funcional de las glándulas córticoadrenales". Se practica en la forma que hicimos esta investigación, pero que inmediatamente de extraída la primera muestra se hace una inyección de 25 mgr. de ACTH (Hormona adrenocórticotropa). Normalmente se produce a las 4 horas una caída de los eosinófilos a más del 50%.

3.—*Variación de los eosinófilos en la anoxemia aguda.*

Constituye esto la parte fundamental del presente trabajo.

En la mayoría de los 21 sujetos llevados a la altitud, hemos hallado un notable descenso en el número de los eosinófilos circulantes. Las cifras individuales obtenidas, están señaladas en el cuadro N° 5. En el cuadro N° 6, hemos apuntado los resultados del análisis estadístico, y la distribución de los datos están en el histograma N° 3.

Excepto uno, todos los demás sujetos mostraron una evidente caída en sus eosinófilos circulantes, en la altitud. Pero a pesar de las instrucciones dadas, dos sujetos no las siguieron muy bien, habiendo ingerido bebidas alcohólicas en la noche anterior a la ida a Morococha. Y fué precisamente uno de ellos el que más bien tuvo un aumento en el número de sus eosinófilos (+12 %).

Otro sujeto que sólo mostró un descenso de 8%, presenta una eosinofilia marcada que parece deberse a un proceso alérgico (urticarias muy frecuentes). A pesar que tuvo un descenso de 154 elementos, sin embargo porcentualmente es poco marcado.

Entre los 21 sujetos que intervinieron en la investigación, cuatro presentaron un cuadro de soroche agudo. Anotamos a continuación la sintomatología que presentaron, indicando entre paréntesis el número de asorochados que sufrieron determinado síntoma:

- | | |
|-------------------------------|---|
| Trastorno vasomotores: | (Palidez (4)
(Moderada cianosis (3) |
| Trastornos de orden nervioso: | (Cefalea (4)
(Náuseas y vómitos (3)
(Mareos (3)
(Somnolencia (3)
(“Consancio mental” (3) |
| Trastornos circulatorios: | (Frialdad en las extremidades (4)
(Taquicardia (3)
(Arritmia extrasistólica (1)
(Palpitaciones, dolor precordial (2) |

CUADRO Nº 5

	Cítra basal Eos. x mmc.	Cítras en altitud Eos. x mmc.	Variación absoluta	Variación porcentual
1	106	119	+ 13	+12.26%
2	1915	1761	-154	- 8.04%
3	344	271	- 73	-21.14%
4	315	277	- 38	-21.92%
5	155	110	- 45	-29.15%
6	143	100	- 43	-30.06%
7	284	196	- 88	-30.86%
8	275	186	- 89	-32.39%
9	169	109	- 60	-35.49%
10	266	164	-102	-38.46%
11	136	81	- 55	-40.24%
12	117	69	- 48	-41.39%
13	98	54	- 44	-45.25%
14	129	69	- 60	-46.88%
15	153	68	- 85	-55.62%
16	71	31	- 40	-56.05%
17	168	64	-104	-61.87%
18	98	19	- 79	-80.96%
19	121	23	- 98	-81.33%
20	98	16	- 82	-83.21%
21	95	14	- 81	-85.26%

Trastorn. en la func. respir.	(Disnea (1) (Polipnea (4))
Trast. en org. sentidos:	(Visión de escotomas (2))
Trast. gastrointestinales:	(Abalonamiento del vientre (1))

La mayoría de los 17 sujetos restantes presentaron discreta sintomatología que más o menos toleró bien, permitiéndoles ayudar en el trabajo.

Tres de los cuatro sujetos asorochados mostraron un descenso del 80% de eosinófilos y uno de ellos 30%. Vale decir que el 75% de los asorochados tuvieron una eosinopenia muy marcada. Entre los 17 sujetos restantes, que no habían hecho un cuadro de soroche agudo, sólo uno mostró descenso tan alto: 81%.

Tratando de observar si hay una diferencia en el descenso de eosinófilos, según el número de horas de estadía en Morococha, hicimos el recuento en un grupo a la hora de llegada, en otro a las 2 horas, a las tres horas y a las cuatro horas. Señalamos los resultados en los cuadros Nos 7 y 8, y en el histograma No. 4, en el cual las columnas en negro muestran el porcentaje de descenso y las columnas blancas en el centro de aquellas, señalan el número de sujetos empleados en cada grupo. Aparentemente se observa que el mayor descenso ocurrió en el grupo que tuvo una estadía de cuatro horas en Morococha, pero que puede deberse a que coincidentemente 3 de los cuatro sujetos asorochados están en este grupo, y justamente los tres que presentan el mayor descenso. Si tomáramos sólo en consideración los que no tuvieron el cuadro de soroche agudo, los cuatro grupos presentarían valores promedios de eosinopenias sensiblemente similares: --36%; --31%; --39% y 41%, respectivamente.

CUADRO Nº 6

	Media \pm E. S.	Dsv. St. \pm E. S.	Coef. Var.	Val. Ext.
			%	
Var. Porc.	-43.48 \pm 55.54	24.80 \pm 3.92	57.03	+12.26 α -85.26

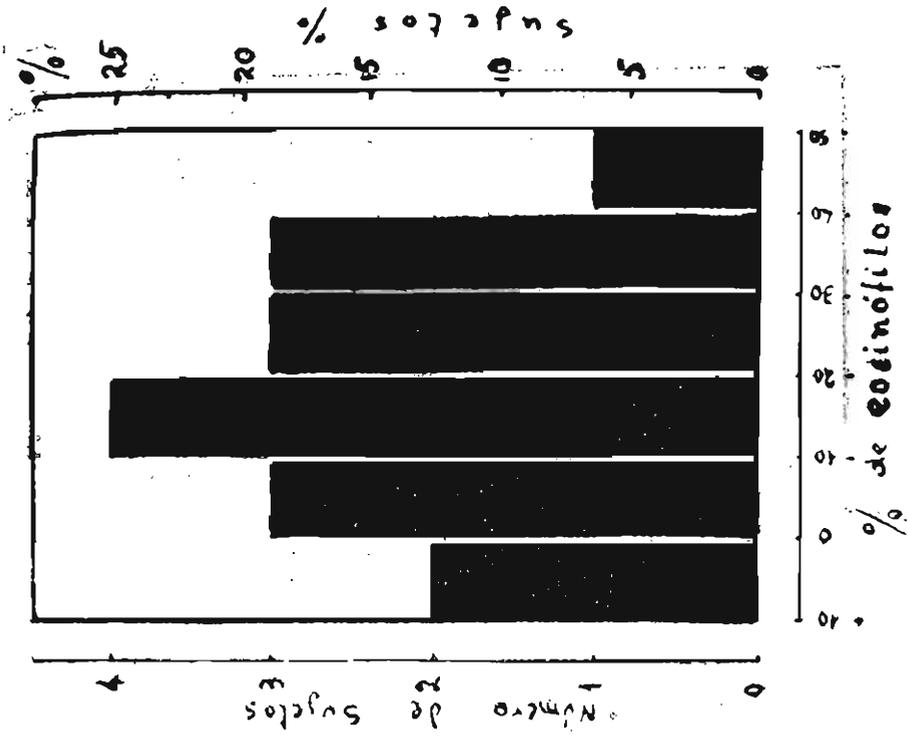
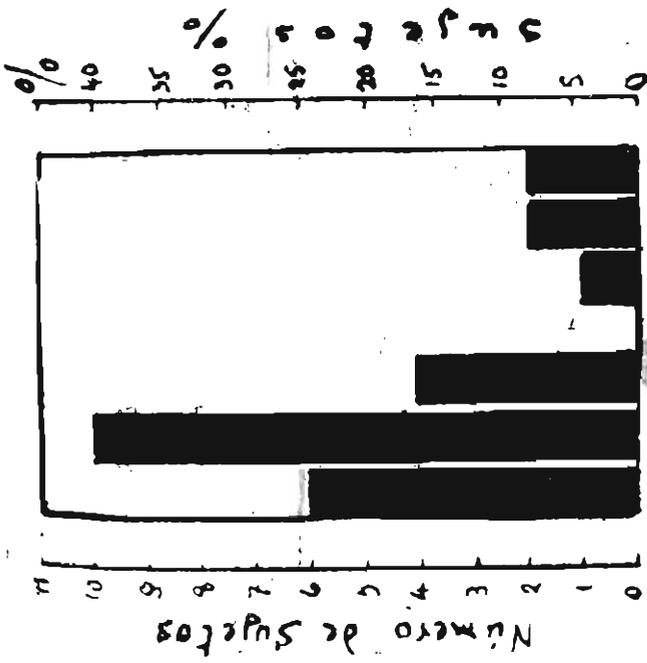
CUADRO Nº 7

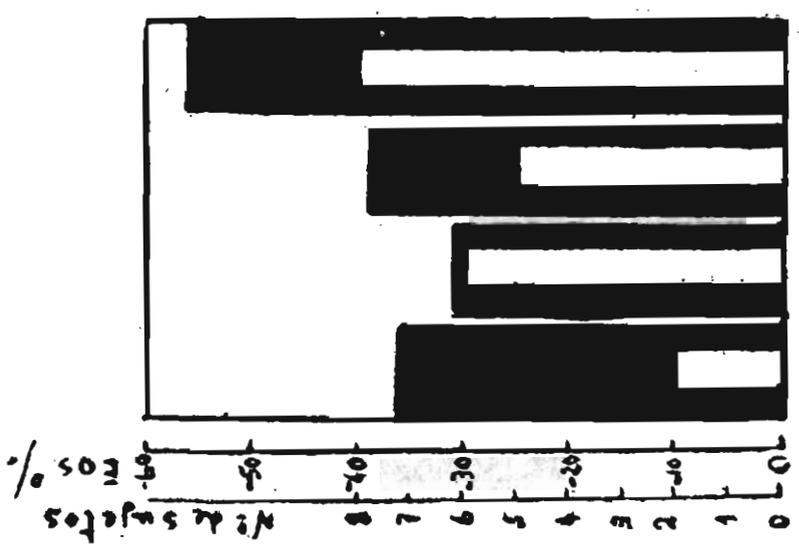
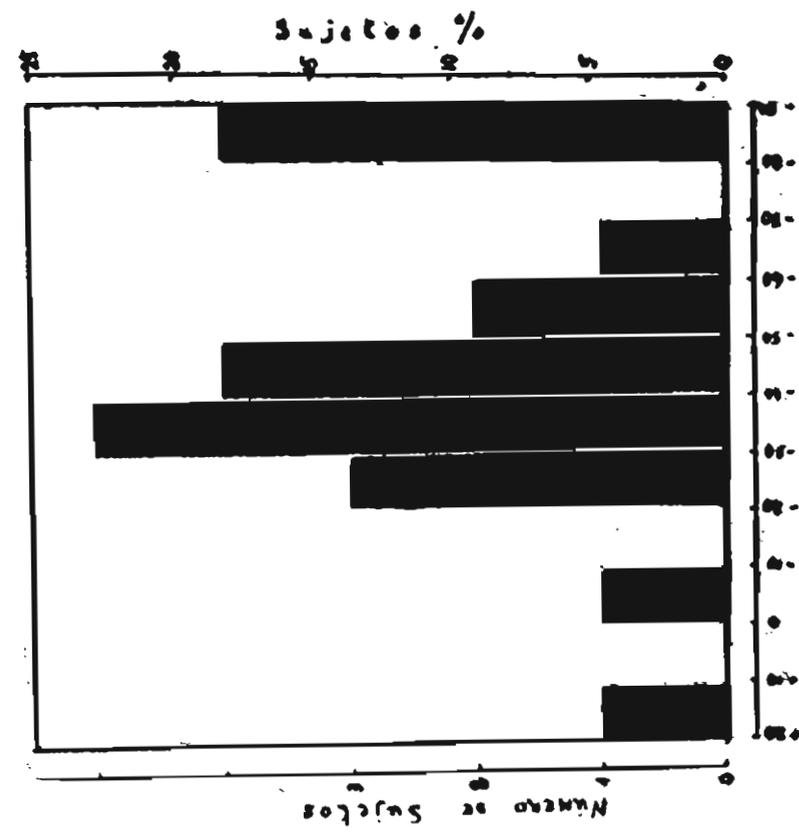
	<i>Cifra basal</i> Eos. x mmc.	<i>Cifra en la altitud</i> Eos. x mmc.	<i>Variación absoluta</i> Eos. x mmc.	<i>Variación porcentual</i>
GRUPO I De 0 a 1 hora de estadía en la altitud:				
8	275	186	— 89	—32.39%
11	136	81	— 55	—40.24%
GRUPO II De 1 a 2 horas de estadía en la altitud:				
12	117	69	— 48	—41.39%
15	153	68	— 85	—55.62%
5	155	110	— 45	—29.15%
7	284	196	— 88	—30.86%
3	344	271	— 73	—21.14%
2	1915	1761	—154	— 8.04%
GRUPO III De 2 a 3 horas de estadía en la altitud:				
10	266	164	—102	—38.46%
6	143	100	— 43	—30.06%
17	168	64	—104	—61.87%
19	121	23	— 98	—81.33%
1	106	119	+ 13	+12.26%
GRUPO IV de 3 a 4 horas de estadía en la altitud:				
4	315	277	— 38	—21.92%
16	71	31	— 40	—56.05%
14	129	69	— 60	—46.68%
13	98	54	— 44	—45.25%
20	98	16	— 82	—83.21%
9	169	109	— 60	—35.49%
21	95	14	— 81	—85.26%
18	98	19	— 79	—80.96%

CUADRO Nº 8

*Cifra media del descenso de los eosinófilos en la altitud,
según las horas de estadía*

Grupo		%
I	De 0 a 1 hora de estadía en la altitud	—36.31
II	De 1 a 2 horas de estadía en la altitud	—31.03
III	De 2 a 3 horas de estadía en la altitud	—39.88
IV	De 3 a 4 horas de estadía en la altitud	—56.85





DISCUSION

1.—*Del Material, Método y Técnica.*

Como ya dijimos, hemos empleado el *recuento directo de eosinófilos*, por ser el más exacto. Puesto que el método del recuento diferencial requiere también un recuento de leucocitos, lo que significa participar de factores de error duplicados, por cada uno de los recuentos. "Los errores de mayor magnitud se hallan en la técnica del recuento diferencial. Pueden ser clasificados de acuerdo con Barnett, como los errores mecánicos que incluyen todas las variaciones en la toma de la muestra de sangre, irregularidades en la distribución de las células y de las áreas sobre las que se hace el recuento; y secundariamente errores accidentales". (31).

En cuanto al método de coloración: se emplean en la actualidad dos métodos: el que nosotros hemos usado, que es el de Dunger modificado por Thorn (4), (39), y el ideado por Randolph (31). Este último sustituye la mezcla eosina-acetona de Dunger por phloxineazul de metileno en glicol propileno. Por este método se puede hacer, simultáneamente también el recuento de leucocitos totales, lo que recomienda su autor. Hay quienes opinan que es el método de elección; no lo hemos ensayado por carecer de la droga.

2.—*De los Resultados obtenidos:*A.—*Cifras normales de eosinófilos.*

Las cifras que hemos obtenido, lo fueron en un pequeño grupo humano, por lo que de ninguna manera pretendemos hacer de nuestros resultados un reflejo absoluto de la realidad. Pero sí podemos tener una orientación, ya que las cifras nuestras no se alejan mucho de las que se han obtenido en otras poblaciones humanas. Thorn y asociados (39), dan como cifras normales de eosinófilos de 100 a 250 por mmc. Fisher y Fisher (9), hacen un estudio en 170 individuos, encontrando que sus resultados están de acuerdo con los hallados por Osgood, Todd y Kracke, siendo sus normales de 10 a 400 eosinófilos por milímetro cúbico. Sola-

mente alrededor del cincuenta por ciento de sus cifras están dentro de las cifras dadas por Thorn. Como se ve en los cuadros Nos. 1 y 2 y en el histograma N^o 1, nuestras cifras varían entre 70 y 372 eosinófilos por mmc., estando esto más de acuerdo con las cifras dados por Fisher. El 50 % de nuestros valores, estarían dentro de las cifras normales dadas por Thorn.

Existe además el problema de las *fluctuaciones diarias* que debería tomarse en cuenta al hablar de cifras normales.

B.—Variación de los eosinófilos en cuatro horas:

El hecho de que, en la mayoría de los sujetos se halla encontrado un descenso en el número de los eosinófilos sin el suministro de droga alguna, y tratando de que el sujeto siga dentro de su actividad normal, cotidiana, es muy significativo. En primer lugar, nos habla de la fluctuación del número de eosinófilos, hecho ya conocido (9), (10), y que debe ser tomado en cuenta para quien se ocupa de establecer las cifras normales absolutas. En segundo lugar, nos invita a considerar el valor del Test de Thorn. En éste se requiere de la inyección de hormona adrenocórtico-tropa (ó adrenalina) para estimular por vía exógena la secreción de esteroides córtico-adrenales e investigar el funcionamiento del sistema hipófisis-suprarrenal.

Si los eosinófilos, en estas condiciones, bajan a las cuatro horas más allá del cincuenta por ciento de su cifra basal hablamos de funcionamiento normal (39). Pero nosotros hemos encontrado que *sin droga alguna*, e imitando las condiciones de Thorn obtenemos un descenso cuya media es de 18.59% y con valores extremos de +3.70% y -43.86%. Hay quien encuentra variaciones aún mayores y observa que la inyección de extractos córticoadrenales producen cambios en nada diferentes a las variaciones o fluctuaciones diarias normales (9). Sin embargo, nos parece que este hallazgo no altera el valor del Test de Thorn, puesto que esta fluctuación diaria acentuada sólo se observa en sujetos normales, como veremos más abajo.

Flink y Halberg (10), hacen un estudio en 200 sujetos normales, investigando la variación en los eosinófilos que ocurre entre las 6.30 a.m. y 9.30 a.m., observando un descenso de más del 20% en el 68% de los sujetos. A esto llaman "*la prueba de eosinopenia*

endógena" y al descenso de más de 20% lo califican de resultado negativo. Al hacer 41 investigaciones en 20 pacientes que sufren de insuficiencia pituitaria y/ó adrenocortical, observan que 40 pruebas son positivas, es decir, que no alcanzan a un descenso de 20% o más. Concluyen que resultados negativos con "la prueba de la eosinopenia endógena" son una evidencia fuerte contra la insuficiencia pituitaria y/ó adrenocortical.

Nosotros hemos obtenido tests de eosinopenia endógena negativos en solo 43.75% de nuestros 16 sujetos normales. Pero lo hemos hecho a horas diferentes de los de autores que comentamos. Además, en un caso (el N° 6 del cuadro N° 3), lo hemos repetido en otra oportunidad y el resultado fué un descenso de -56.37% y no de -11.50%, como está consignado. Pero debemos advertir que este sujeto el día que presentó el mayor descenso estaba sometido a intensa actividad mental (se trata del autor del presente trabajo). No conocemos bien las condiciones en que Flink (10), hace su recuento, pero nos parece importante que las condiciones, tanto de los sujetos presuntos normales, como de los enfermos que se investigan deben ser similares.

C.—Variación de los eosinófilos en la anoxemia aguda:

La anoxia (o como algunos lo llaman la hipoxia), así como otros muchos agentes, constituye un "estímulo de alarma" y de acuerdo a lo que sucede en éstos hay un aumento en la secreción de las hormonas de la corteza adrenal, con los consiguientes cambios metabólicos, citológicos y hormonales que engendran. Hemos tomado uno de los índices más constantes para observar esta actividad suprarrenal y es la variación en los eosinófilos circulantes (35).

Nuestros resultados no coinciden con los obtenidos por Hurtado, Merino y Delgado Febres, que exponen en el magnífico estudio: "La influencia de la anoxemia sobre la actividad hematopoyética". Si bien sus determinaciones no son hechas en Morococha que se halla a 4.540 metros sobre el nivel del mar, sino unas fueron realizadas en Casapalca (4.165 m.), obteniendo una variación de 4.2 eosinófilos por ciento en Lima, a 4.6% en aquella población. Otras determinaciones fueron hechas en la Cima (4.835 m.), donde encuentran 3.3% de eosinófilos y en el mismo grupo

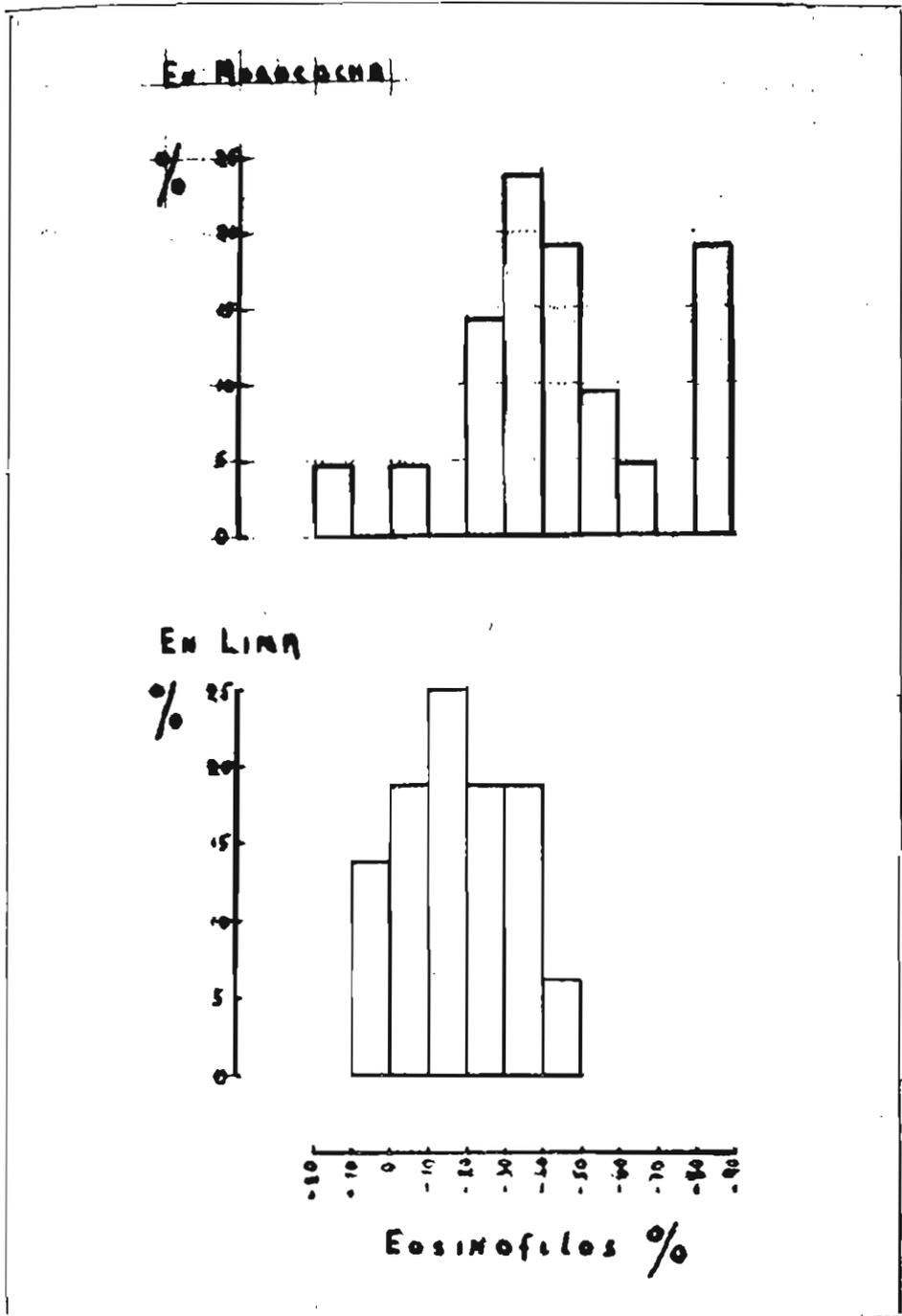
habían encontrado en Lima sólo 3.6%, notando, pues, variaciones muy pequeñas.

Debemos anotar que el viaje en este último caso, duró para ellos tres y media horas; nuestro viaje tuvo una duración de cuatro a seis horas.

Atribuimos la diferencia, en cuanto a la variación de los eosinófilos, a los distintos métodos empleados y quizá también a que nosotros hicimos el recuento cuando el sujeto estaba sometido a la anoxia durante más tiempo. Ya que *las cifras más bajas en el recuento de eosinófilos, después de someter al sujeto a cualquier stress, son de pasadas tres a cuatro horas, aunque desde la primera hora ya se nota una manifiesta tendencia al descenso* (12), (11), precedida por un aumento inicial (5). (También nosotros observamos en 2 sujetos sometidos a tratamientos electroconvulsivos, a los quince minutos, un aumento del 54% sobre las cifras basales, para a las 2 horas notarse un descenso del 40% y a las cuatro horas del 69%, como promedio).

En el histograma N° 5, hemos comparado las variaciones diurnas espontáneas obtenidas en el período de cuatro horas y las variaciones obtenidas en la altura; claramente se observa el mayor descenso en la altura. Pero debemos recordar que ambas determinaciones no fueron hechas en igual número de horas y a las mismas horas del día. Sin embargo, quizás nuestras cifras de la eosinopenia en la altura han podido ser aún mayores. La razón para ello está en que hemos obligado a nuestros sujetos a levantarse de 3 1/2 a 5 a.m., lo que de por sí constituye un stress. Transcribimos a Pincus y Hoagland (29). "El levantarse en la mañana hace tiempo que nos pareció un "stress" y hemos comunicado que la gente en general muestra una excreción aumentada de adrenocorticoides que acompaña al inicio de las actividades diarias. Por ejemplo, *hay un aumento promedio del $50 \pm 14\%$ en la excreción de los 17-Ketosteroides durante las dos primeras horas después de levantarse, sobre el nivel del sueño; y esto tiende a declinarse progresivamente durante el día*".

Una observación sumamente interesante nos parece ser la que se refiere al descenso de eosinófilos en los sujetos que hicieron un cuadro de soroche agudo. Fueron ellos los que en el cuadro N° 5, están signados con los números 7, 18, 20 y 21. Tres de ellos hicieron un descenso de eosinófilos de más del 80% (vale decir el



HISTOGRAMA Nº 5

75% de los sujetos asorochados). Mientras que de las 17 personas restantes sólo uno mostró una baja tan intensa. Si aceptamos que la eosinopenia aquí es un fiel reflejo de la función estimulada de la suprarrenal, podríamos decir que en el sujeto asorochado ella está más excitada y que segrega mayor cantidad de C_{11} y C_{17} oxisteroides, causantes de esta baja de eosinófilos (39). Por lo que ya sea que esté el causal del soroche a nivel de los pulmones con la consiguiente *dificultad de adquisición del oxígeno atmosférico* Monge (36), o más bien en los tejidos, donde haya un estorbo para su adquisición Hurtado (18), probablemente no sea una hiperfunción insuficiente de la glándula suprarrenal (por lo menos en cuanto a la secreción de los 11-17 oxisteroides se refiere), la causante del cuadro de soroche agudo.

CONCLUSIONES

Se ha investigado la respuesta suprarrenal por la prueba de los eosinófilos, en un grupo de sujetos, sometidos a la anoxia aguda, al llevarlos a la altitud (Morococha). También en forma complementaria, se han investigado los valores normales de los eosinófilos circulantes a nivel del mar (Lima), y su variación en 4 horas. Llegamos a las siguientes conclusiones:

1ª—En la mayoría de sujetos sometidos a la anoxia aguda se produce un descenso en el número de eosinófilos circulantes, el que sería motivado por una excitación de la glándula suprarrenal en la anoxia aguda.

2ª—La mayoría de los sujetos que presentan soroche agudo, muestran una eosinopenia más intensa, en comparación con los no asorochados. Lo que indicaría una más intensa estimulación suprarrenal en los asorochados y una respuesta que parece estar de acuerdo con la intensidad del estímulo.

3ª—El número de los eosinófilos circulantes en 25 personas jóvenes, clínicamente normales, en ayunas, osciló entre 70 a 372 por milímetro cúbico, a nivel del mar.

4ª—Los eosinófilos varían espontáneamente en el lapso de 4 horas (de 8-9 a.m. a 12-1 p.m.), mostrando generalmente un descenso.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—ALBRIGHT F. and REIDENSTEIN F. C.—*The parathyroid glands and metabolic bone disease*. Baltimore, Q. Williams and Wilkins, 1948.
- 2.—ALTSCHULE M. D. and PARKHURST B. H.—*Effect of treatment on excretion of 17-Ketosteroids in patients with mental disease*. Archives of Neurology and psychiatry. 64: 516, 1950.
- 3.—ARTUNKAL S. and KAYAHAN S.—*The effect of glucose on the circulating eosinophils*. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. 12: 1095, 1952.
- 4.—BEST W. R. and SAMTER M.—*Variation and error in eosinophil counts of blood and bone marrow*. Blood 6: 61, 1951.
- 5.—BLISS E. L., RUBIN S. and GILBERT T.—*The effect of adrenalin on adrenal cortical function*. Journal of Clinical Endocrinology. 11: 46, 1951.
- 6.—CLEGHORN R. A. and GRAHAM B. F.—*Studies of adrenal cortical activity in psychoneurotic subjects*. The American Journal of Psychiatry. 106: 668, 1950.
- 7.—DOUGHERTY T. F. and WHITE A.—*Influence of hormones on lymphoid tissue structure and function. The role of the pituitary adrenotrophic hormone in the regulation of the lymphocytes and other cellular elements of the blood*. Endocrinology. 35: 1, 1944.
- 8.—ELLESTAD M. H. and REED J.—*Circulating Eosinophils in cardio-vascular stress*. Annals of Internal Medicine. 36: (Part 2), 551.
- 9.—FISHER B. and FISHER E. R.—*Observations on the eosinophil count in man. A proposed test of adrenal cortical function*. The American Journal of the Medical Sciences. 221: 121, 1951.
- 10.—FLINK E. B. and HALBERG F.—*Clinical studies on eosinophil rhythm*. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. 12: 922, 1952.
- 11.—GABRILOVE J. L.—*The level of the circulating eosinophils following trauma*. Journal of Clinical Endocrinology. 10: 637, 1950.
- 12.—GRAHAM B. F. and CLEGHORN R. A.—*Changes in the circulating leucocytes following electrically induced convulsions in man*. The Journal of Clinical Endocrinology. 11: 1469, 1951.
- 13.—HERNÁNDEZ MORALES F., CASAS C. B. and GARCÍA SANZ M.—*Thorn test in patients with eosinophilia related to parasitic infection*. J.A.M.R. 144: 379, 1950.
- 14.—HARTMAN F. A. and BROWNELL K. A.—*The adrenal gland*. Philadelphia: Lea and Febiger, 1949.
- 15.—HOUSSAY R. H.—*Las suprarrenales en la hipoxia y la intoxicación por histamina*. Buenos Aires: El Ateneo, 1951.
- 16.—HURTADO A., MERINO C. y DELGADO FEBRES E.—*La influencia de la anoxemia sobre la actividad hematiopoyética*. Anales de la Facultad de Medicina. Tomo XXIX, N° 2, 1946.
- 17.—HURTADO A.—*Métodos Estadísticos*. Anales de la Facultad de Medicina. Tomo XXVIII, 1945.
- 18.—HURTADO A.—*Aspectos fisiológicos y patológicos de la vida en la altura*. Lima: Empresa Editora "Rímac" S. A., 1937.

- 19.—INGLE D. J.—*The functional interrelationship of the anterior pituitary and the adrenal cortex.* Annals of Internal Medicine. 35: 652, 1951.
- 20.—KINSELL L. W.—*The clinical application of pituitary adrenocorticotropic and adrenal steroid hormones.* Annals of Internal Medicine. 35: 615, 1951.
- 21.—KUHL W. L., WILSON H. and RALLI E. P.—*Measurements of adrenal cortical activity in young men subjected to acute stress.* The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. 12: 393, 1952.
- 22.—LONG C. N. H.—*The conditions associated with the secretion of the adrenal cortex.* Federation Proceedings. 6: 461, 1947.
- 23.—MASON H. L. and ENGSTROM W. W.—*The 17-Ketosteroides: their origin determination and significance.* Physiological Reviews. 30: 321, 1950.
- 24.—MONGE C.—*La enfermedad de los Andes.* Anales de la Facultad de Medicina. Nos. 1 y 2, Abril a Julio de 1928.
- 25.—MONGE C.—*High altitude disease.* Reprinted from the Archives of Internal Medicine. 59: 32, 1937.
- 26.—PENNEY R., BEDELL THOMAS C. and LEWIS R. A.—*Reduction in the number of circulating eosinophils following induced anoxemia.* Bull. Johns Hopkins Hops. 86: 102, 1950.
- 27.—PERLMUTTER M., MUFSON M.—*The hypoglycemic and eosinopenic response to insulin. A test for pituitary-adrenal insufficiency.* The Journal of Clinical Endocrinology. 11: 277, 1951.
- 28.—PERLOFF W. H., LEVY L. M. and DESPOPOULOS A.—*The eosinophil response to stress of patients with surgical produced thalamic and hypothalamic lesions.* The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. 12: 36, 1952.
- 29.—PINCUS G. and HOAGLAND H.—*Adrenal cortical responses to stress in normal men and in those with personality disorders. Part I. Some stress responses in normal and psychotic subjects.* The American Journal of Psychiatry. 106: 641, 1950.
- 30.—PINCUS G. and HOAGLAND H.—*Part II. Analysis of the pituitary-adrenal mechanism in man* the American Journal of Psychiatry. 106: 651, 1950.
- 31.—RANDOLPH T. G.—*Blood studies in allergy: I The direct counting chamber determination of eosinophils by propylene glycol aqueous stains.* The Journal of Allergy. 15: 89, 1944.
- 32.—ROCHE M., THORN G. W. and HILLS A. G.—*The levels of circulating eosinophils and their response to ACHT in Surgery.* The New England Journal of Medicine. 242: 307, 1950.
- 33.—SAYERS G.—*The adrenal cortex and homeostasis.* Physiological Reviews. 30: 241, 1950.
- 34.—SELYE H.—*Textbook of Endocrinology.* Montreal: Acta Endocrinológica Inc., 1949.
- 35.—SELYE H.—*The physiology and pathology of exposure to stress.* Montreal: Acta Inc. Medical Publishers, 1950.
- 36.—SHANDS H. C. and BARTTER F. C.—*A statistical analysis of the "ACTH Test" changes in the eosinophil count in normal and in psychoneurotic subjects.* The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. 12: 178, 1952.

- 37.—SPEIRS R. S. and MEYER R. K.—*The effects os stress, adrenal and adrenocorticotrophic hormones on the circulating eosinophils of mice.* *Endocrinology* 45: 403, 1949.
- 38.—TAYLOR R. H., GROSS M. and RUBY I. J.—*Non convulsive electrostimulation and the pituitary-adrenocortical system.* *The Journal of Nervous and Mental Diseases.* 114: 1951.
- 39.—THORN G. W., FORSHAM P. H., GARNET PRUNTY F. T. and HILLS A. G.—*A test for adrenocortical insufficiency. The response to pituitary adrenocorticotropic hormone.* *J.A.M.A.* 137: 1005, 1948.
- 40.—WEINER H. A. and MORKOVIN D.—*Circulating blood eosinophils in acute infectious disease and the eosinopenic response.* *The American Journal of Medicina.* 13: 58, 1952.