

ACCION DE LA RESERPINA SOBRE LAS CELULAS
DE KULTSCHITSKY*

DRA. ROSARIO BARROSO-MOGUEL
DR. ARTURO VARGAS SOLANO

ANTECEDENTES

LA DESCRIPCIÓN clásica de las células granulosas de la mucosa del tracto digestivo se encuentra en el trabajo de Kultschitsky de 1897; entonces se las consideró como estrechamente relacionadas con las secreciones entéricas. Ocho años más tarde, J. E. Schmidt notó que las granulaciones de las células de Kultschitsky toman color amarillo pálido cuando se fijan en bicromato de potasio; pero su cualidad histoquímica característica consiste en tener granulaciones intracitoplásmicas que reducen rápida, fácil e intensamente las sales amoniacaes de plata, según estudió Masson con todo detalle. Estas reacciones histoquímicas producen también en las células de la médula suprarrenal y de los paraganglios, las cuales reducen débilmente y en condiciones especiales a las sales de plata, en tanto fijan con intensidad el cromo, que las confiere color pardo. Por ello, las células de Kultschitsky se consideran argentafines, y las suprarrenales y de los paraganglios, cromafines.

La idea inicial de que las células de Kultschitsky, como también las de Peneth, deberían intervenir en la elaboración de jugos digestivos, no pudo comprobarse por medios experimentales (Cardier, Grasso); Masson demostró sus relaciones morfológicas con las fibras nerviosas de la mucosa intestinal, Hamperl notó que las granulaciones intracitoplásmicas se disuelven en alcohol concentrado y en bicloruro de mercurio, en tanto que Cordier y Lison demostraron que la substancia cromoargentafina da positiva la diazorreacción, tiñéndose en color rojo intenso; estos trabajos fueron confirmados por Clara y Zenardi. A consecuencia de estas y otras observaciones personales complementarias, Törö consideró que el producto elaborado por las células de Kultschitsky era inespecífico.

* Trabajo presentado por sus autores en la sesión ordinaria del 13 de marzo de 1963.

Los progresos de la histoquímica se reflejaron desde los trabajos de Clara quien, además de comprobar los precedentes de Cordier y Lison, estableció que las granulaciones argentafines de las células intestinales tienen una cadena lateral de orto-dioxi-nezol unida en posición para. Aproximadamente por el mismo tiempo, Vialli y Erspamer aislaron de la mucosa intestinal una sustancia a la que llamaron enteramina. El estudio bioquímico de las relaciones entre la enteramina y las células de Kultschitsky encontró un excelente material de estudio en los llamados tumores carcinoides por Oberndorfer, quien los había descrito desde 1907 y que, como demostró Masson, están formados por células argentafines derivadas de las normales de Kultschitsky, según ha comprobado después Stout; en los carcinoides la sustancia cromogargentina está intensamente concentrada.

Vialli y Erspamer continuaron sus trabajos sobre la enteramina determinando sus reacciones químicas colorantes en tanto que, partiendo de puntos de vista diferentes, el grupo de investigadores del Instituto Rockefeller, bajo la dirección de Van Slyke, trabajaba en la identificación de sustancias presoras y vasoconstrictoras de la sangre y los tejidos. La capacidad vasoconstrictora del suero sanguíneo normal era conocida desde cien años antes y clásicamente se distinguían tres sustancias en el suero: la denina, la angiotonina y la norepinefrina. Page y Corcoran se ocupan de estudiar la hemostasia, especialmente por lo que se refiere a la retracción del vaso sanguíneo a nivel del coágulo; con la ayuda de Green y Rapport prepararon un extracto de suero del que aislaron una sustancia vasoconstrictora cristalizable muy activa; en 1947 se averiguó que se trataba de una triptamina a la que llamaron serotonina. Rapport demostró que se trataba exactamente de 5-hidroxitriptamina (5-HT) y poco después Hamlin y Fischer la sintetizaron con las mismas propiedades que el producto natural.

La aglutinación de las plaquetas y la liberación simultánea de serotonina como factor determinante de hemostasia espontánea fue estudiada por Zucker, Rand y Reid. En este momento del desarrollo científico del tema encontró Asero que la enteramina era idéntica a la serotonina, es decir, 5-HT cristalizable. De inmediato se inició una larga serie de trabajos para analizar las propiedades de la serotonina, así como sus lugares de elaboración y almacenamiento; cobró así nuevo interés el estudio de las células argentafines. Correl *et al.* comprobaron que la hemorragia por heridas experimentales es menor en los animales tratados con 5-HT; esta sustancia, administrada a perros y a conejos anestesiados, por Freyburg *et al.*, aumentó intensamente la motilidad intestinal.

El año de 1953 fue fecundo en hechos importantes. Barter y Pearse demostraron que la reacción argentafín se produce también "in vitro", si previamente se trata la serotonina con formol. Twarog y Page comprobaron que la serotonina desaparece rápidamente de la sangre, destruida por las aminooxidasas, cuando se administra mediante inyección intravenosa. Erspamer y Asero vieron que la administración de 2 a 10 mg de serotonina por Kg de peso produce en los

animales vasoconstricción renal, que da aspecto moteado a la superficie externa de los riñones y que puede causar degeneración y necrosis focales en la corteza. También debemos a Erspamer el conocimiento de que un tratamiento previo con vasodilatadores bloquea fácilmente los efectos vasoconstrictores de la serotonina. Comroe *et al.* descubrieron que también los músculos bronquiales resultan contraídos por la acción de la serotonina. Además, Lembek comunicó que los extractos del tumor carcinoide contienen serotonina en grandes cantidades (1-3 mg por g) y que los síntomas clínicos deben atribuirse a esta substancia, que se encuentra en la sangre y se elimina por la orina de los enfermos en forma de ácido 5-hidroindolacético (ac. 5-HIA), en tanto que Page y McCubbin notaron el desarrollo de rubor cutáneo como efecto calateral de la administración de serotonina a pacientes hipertensos.

Los progresos sobre el tema continuaron en direcciones diferentes. Erspamer y Page escribieron sendas revistas generales sobre el tema, en tanto que Correale, y Erspamer continuaron sus estudios, el primero sobre la acción hipertensiva de la serotonina, el segundo sobre las relaciones de la serotonina con las células de Kultschitsky, a las que denominó sistema celular enterocromafin. Udenfriend y Weissbach completaron sus estudios sobre la serotonina de las plaquetas. Clarck *et al.*, realizaron importantes trabajos sobre el metabolismo de la serotonina, mientras Ratzenhofer y Lembeck, y Rambo continuaron el estudio de los argentafinomas.

Durante el año de 1955 las investigaciones de Benditt *et al.*, relacionaron la serotonina en forma poco precisa con las células cebadas, en tanto que el metabolismo de la 5-TH fue motivo de estudios por parte de Sjoerdsma y Udenfriend, Page *et al.*, Barter y Pearse. Los primeros de los autores citados confirmaron la excreción de ác. 5-HIA en enfermos con tumor carcinoide; Page *et al.*, consideraron al carcinoide como un tumor endocrino sobre la base de que elabora grandes cantidades de serotonina; y Barter y Pearse señalaron que, aunque la naturaleza de los gránulos en las células argentafines del intestino está en discrepancia con las pruebas farmacológicas de la 5-HT, es evidente que la substancia contenido en las células de Kultschitsky se parece a la serotonina más que a cualquier otro compuesto fenólico de los hasta ahora sugeridos sobre bases histoquímicas. Al parecer, la indispensable fijación en formaldehído produce en las células un derivado betacarbonílico completamente conjugado, responsable de la fluorescencia y de las reacciones histoquímicas observadas en los gránulos. Además, hubo progresos importantes, como la publicación de métodos para medir la concentración de serotonina en sangre, orina y tejidos, por Udenfriend y colaboradores; también al grupo del mismo investigador debemos la seguridad de que la serotonina deriva del triptófano, mientras que Sjoerdsma *et al.*, comprobaron que el producto final del metabolismo de la serotonina en el hombre y en los animales del laboratorio es el ác. 5-HIA. La acción de la serotonina sobre los ri-

ñones durante los experimentos sobre fisiopatología, fue analizada detalladamente por Salgado y Green, Page y Glendenning, Hedinger y Langeman. Estos dos últimos autores comunican la producción de trombocitosis después de administrar grandes cantidades de serotonina a ratas, resultados que se complementan con los de Fornaroli y Köller, Fenichel y Seegers. La determinación del ác. 5-HIA fue motivo de trabajos importantes de Hanson y Serin, Bumps y Page.

En 1956 aparecieron dos importantes trabajos de conjunto sobre serotonina, uno de Wilkins, que la considera desde un punto de vista clínico y la relaciona con la hipertensión arterial, y el de Erspamer, publicado en castellano y que pone al día todas las circunstancias importantes del tema. Los efectos sobre el riñón fueron confirmados por Ballerini y Cantelli, Greco *et al.* Las relaciones con las plaquetas y la coagulación sanguínea fueron motivo de una comunicación de Zucker y Borrelli; altas concentraciones de serotonina existen normalmente en las plaquetas sanguíneas, las cuales la liberan durante la coagulación; alteraciones importantes de este fenómeno se describen en casos de trombocitopatía. Nuevos estudios bioquímicos añadieron determinaciones cuantitativas de serotonina en los tejidos animales (Parrat y West), el papel de precursor del 5-hidroxitriptófano en la biosíntesis natural de la serotonina (Gadum y Giarmar); y los efectos de la administración de 5-hidroxitriptófano (Erspamer). Pearse confirmó con nuevas reacciones histoquímicas que las granulaciones argentafines de las células de Kultschitsky contienen 5-HT. Udenfriend *et al.*, confirmaron que el 5-hidroxitriptófano es el precursor natural de la 5-HT por la acción de la 5-hidroxitriptófano-decarboxilasa.

Dos excelentes trabajos de conjunto sobre serotonina aparecieron en 1957; el más apasionante es el de Page, y el más concreto, con amplia información bibliográfica, el de Borger y Bessman. La relación posible entre serotonina y células cebadas volvió a ser considerada por Waalkes *et al.*, y Parrat y West. Los intentos para reproducir en animales el síndrome del tumor carcinoide fueron continuados por Davidson *et al.*, sin grandes progresos; Haverback y Bodgdanski, Hedinger y Veraguth, produjeron erosiones en la mucosa gástrica mediante inyecciones de serotonina.

Un buen artículo sobre el tumor carcinoide apareció en 1958 escrito por Adamson y Postlethwait. Nuevas reacciones colorantes para las granulaciones de las células argentafines de Kultschitsky fueron ideados por Kevorkian. MacDonald, Robbins y Mallory publicaron tres trabajos detallando las alteraciones que se producen en los animales a los que se inyecta serotonina, sin conseguir la reproducción exacta de síndrome del carcinoide. McIsaac *et al.* determinaron bioquímicamente que la orina de los enfermos con tumor carcinoide no sólo contiene ac. 5-HIA, sino también menores cantidades de otros productos finales del metabolismo de la serotonina, tales como ácido 5-hidroxiindolacético, 5-hidroxitriptamina y n-acetil-5-hidroxitriptamina.

Durante 1959 continúa disminuyendo el número de contribuciones originales al problema de la serotonina, y sólo cuatro trabajos merecen citarse aquí. Dos de revisión general sobre el síndrome del tumor carcinoide (Schneckloth et al. y Peskin y Orloff); y otros dos sobre química, el histológico de Glenner y Lillie que relaciona las granulaciones argentafines con un compuesto polifenólico, y el biológico de Donaldson et al. sobre 5-hidroxitriptófano como compuesto intermediario en la biosíntesis de la serotonina. En 1960 sólo merecen mencionarse otros cuatro trabajos: dos histoquímicos, de Lillie y Glenner sobre tumor carcinoide, y el de Gershon sobre monoaminoxidasa; el de conjunto sobre metabolismo de la serotonina, de Zbinden; y el de los efectos de la serotonina sobre el riñón, de Waugh y Pearl. La bibliografía de 1961 y 1962 no contiene hechos originales importantes.

Algunos aspectos colaterales de la serotonina merecen ser mencionados aquí. En primer lugar el descubrimiento de que los llamados adenomas bronquiales son con frecuencia, si no siempre, tumores carcinoides con células argentafines semejantes a las de Kultschitsky del tracto intestinal. Aun cuando tales adenomas, descritos también en la bibliografía antigua como cilindromas, se conocen desde el trabajo de Heschl en 1877 y Mueller en 1882, no empezaron a cobrar interés como entidades clínicas hasta el artículo de Geipel, publicados en 1931. Adams *et al.* fueron los primeros en notar su estructura carcinoide y Feyrter el que estableció distinción sobre bases histológicas entre los carcinoides intestinales y los adenomas bronquiales; éstos rara vez contienen células diazopositivas. Debemos a Williams y Azzopardi el desarrollo de la idea según la cual los adenomas bronquiales presentan estructura carcinoide y sobre hechos tan interesantes como la no coincidencia de ambos tumores en el mismo enfermo, abogando por llamarlos carcinoides bronquiales. También Weiss e Ingram Goodner *et al.*, han estudiado recientemente los adenomas bronquiales con estructura carcinoide.

Viali y Erspamer las encontraron en las glándulas salivales de octópodos, en el órgano hipobranquial de murícidos y en las glándulas cutáneas de anfibios.

Células argentafines semejantes a las de Kultschitsky han sido encontradas en diversos lugares del cuerpo por varios autores: Perrone y Acosta-Ferreira, en el timo del pollo y del ñandú; Grasso estudió las células argentafines de la uretra y de la próstata humanas, también del perro, el cavia y la rata, poniendo de relieve que el sistema de células argentafines relacionadas con la serotonina no es exclusivo del tracto gastrointestinal; Barroso-Moguel en las glándulas salivales, pancreática y sudoríparas. En todos estos y en otros lugares es posible que se desarrollen también argentafinomas.

Otro importante tema es el de la relación de la serotonina con la reserpina y la dietilamida del ácido lisérgico, cuerpos todos relacionados con la fisiopatología del encéfalo y con algunas alteraciones demenciales. Los conocimientos básicos partieron del trabajo clásico de Stoll, quien descubrió que la dietilamida

del ácido lisérgico produce psicosis artificiales en el hombre. Wilkins *et al.* introdujeron en los Estados Unidos el tratamiento de la hipertensión arterial con Rauwolfia y reserpina. Gaddum *et al.* notaron que la dietilamida del ácido lisérgico tiene efecto antagónico en la acción de la serotonina sobre el músculo liso. Gaddum y, simultáneamente, Wooley y Shaw, pensaron que la serotonina contenida en el cerebro puede ser importante en las funciones neuronales. Shore y colaboradores publicaron dos trabajos sobre las relaciones que existen entre la serotonina cerebral y la reserpina, su liberador específico. La distribución de la serotonina en el encéfalo fue determinada por el grupo de Udendriend, en tanto que Shore *et al.* y Axelrod *et al.* continuaron ocupándose de las relaciones entre la serotonina, de una parte, y la reserpina y el ácido lisérgico, de otra. Que todas estas substancias se relacionan con la regulación de la presión arterial se deduce del trabajo de Sugaar *et al.* según los cuales, la administración de dietilamida del ácido d-lisérgico o su derivado bromado disminuye marcadamente la presión sanguínea en ratas hembras adultas con hipertensión crónica producida por estenosis de la arteria renal. En fin, Axelrod demostró la conversión de la serotonina y compuestos semejantes en metabolitos psicomiméticos.

BASES HISTOQUÍMICAS

Aparentemente debemos a Simarro, profesor de Psicología Experimental de la Universidad de Madrid, las primeras experiencias que condujeron a las actuales técnicas histológicas con sales de plata. La idea de Simarro fue impregnar los tejidos en substancias fotosensibles, exponerlas a la luz y revelar imágenes nuevas con un reductor, siguiendo los lineamientos en boga hacia 1900 para la obtención de fotografías. Golgi consiguió el premio Nobel con los resultados obtenidos en el cerebro, que fijaba en bicromato potásico y sumergía después en nitrato de plata, porque el cromato de plata formado en la intimidad del tejido nervioso se precipita específicamente sobre las células, dibujando completa y artísticamente su compleja morfología. Cajal, compañero de Golgi en el honor del premio Nobel, inspirado en las doctrinas de Simarro, sumergía pedacitos de encéfalo en solución diluida de nitrato de plata, y luego reducía la impregnación en reveladores fotográficos, tales como hidroquinona y ácido pirogálico. Bielschowsky obtuvo considerable progreso con las soluciones amoniacaes de plata, que pueden usarse en la impregnación de cortes histológicos, donde se reducen con formaldehído de tal manera que se depositan en estructuras variables según las condiciones físicas en las que se realiza la reducción. Las estructuras que quedan teñidas con estos métodos se consideran argentófilas.

Usando los métodos de impregnación argéntica notó Masson que las granuleciones de las células de Kultschitsky se ennegrecen en las soluciones amoniacaes de plata sin necesidad de usar reductor, fenómeno al que se ha designado como

argentafinidad. Había sido antes notado por Fleisch y von Kossa en relación con sales de calcio precipitadas en los tejidos. Cordier y Lison consideraron a la reacción argentafín como determinada por la presencia de un radical fenólico en las granulaciones. Tanto las catecolaminas (adrenalina, noradrenalina) como la serotonina contienen radicales fenólicos; ortodifenoles en las primeras, indolalquilamina en la segunda, Verne y Lison, en forma independiente, comprobaron que el formaldehído ayuda a la ciclización de las catecolaminas para formar precursores de ortoquinonas, y a la ciclización de la serotonina, para formar harmalina, precursor de quinonaimida. El resultado final es la oxidación de la plata o del cromo para formar ortoquinonas, en el caso de las catecolaminas, o quinonaimidas, en el caso de la serotonina. Ortoquinonas y quinonaimidas tienen color amarillento en la reacción cromafín, y se cubren con plata reducida negra durante la reacción argentafín (Guerrero).

Como antes hemos esbozado, las células de Kultschitsky dan fácil e intensamente la reacción argentafín, en tanto que las células de la médula suprarrenal y de los paraganglios son débilmente argentafines. Uno de nosotros (Barroso-Moguel) ha elaborado una técnica para la argentafinidad de las células elaboradoras de catecolaminas, que consiste en tratar los cortes histológicos con una mezcla a partes iguales de piridina, amoníaco y alcohol de 96°B antes de hacer la impregnación con nitrato y carbonato de plata sucesivamente. Los resultados positivos logrados con esta técnica se consideraron como argentafinidad inducida. Pensamos que disponemos ahora de técnicas para teñir específicamente dentro de las células a la serotonina y a las catecolaminas.

Nos convenía, por lo tanto, probar experimentalmente si nuestra suposición era correcta y la argentafinidad podía utilizarse con valor histoquímico definido. La serotonina, como anotamos en la información bibliográfica (Shore *et al.*) desaparece casi completamente de los tejidos si se administra al animal una sola dosis de 5 mg. por Kg. de peso de reserpina por vía intravenosa. La liberación de serotonina aumenta progresivamente durante 16 horas, en cuyo momento queda reducida al 10% de su valor normal; esta baja concentración se mantiene unas 30 horas, y luego la serotonina dosificable por medios biológicos se eleva lentamente hasta recuperar el nivel normal entre 5 y 7 días después. Esta circunstancia nos llevó a planear un experimento, encaminado a reconocer lo que acontece a las granulaciones argentafines de las células de Kultschitsky durante la desaparición de la 5-HT por la acción de la reserpina, detalle que no está consignado en el trabajo de Shore *et al.* ni en el de ninguno de sus numerosos seguidores. Nuestra hipótesis de trabajo fue que, si las granulaciones de las células de Kultschitsky representan a la serotonina, deberían desaparecer durante el experimento.

MATERIAL Y TÉCNICAS

Por vías de ensayo, se inyectó reserpina (Serpasil CIBA diluida en solución salina o líquido de Gay) a dosis variables entre 0.005 mg/Kg. y 15 mg/Kg.; en conejos se utilizó la vía intravenosa; en ratas y ratones, la vía intraperitoneal; y en ranas, la vía linfática (saco dorsal). Se sacrificó a los animales entre una hora y siete días después de la inyección última (las dosis altas se administraron en varias inyecciones), se fijaron en formol al 10% y se hicieron cortes por congelación a diferentes niveles del tubo digestivo. Como métodos de coloración se emplearon los de Río Hortega y de Barroso-Moguel para argentafinidad.

Las primeras observaciones pusieron de manifiesto que en el conejo, el ratón y la rata existen normalmente variaciones en el número, la distribución y la densidad de las células de Kultschitsky, superiores a las que podrían esperarse por la acción de la reserpina. El reparto irregular de las células de Kultschitsky en esos animales había sido ya notado por Tehver, Schumann, Hoeschen, Klem y Vetter. Por ello no pudimos realizar recuentos estadísticos aprovechables en los animales mencionados. En cambio, la rana tiene una banda de células argentafines que se extiende sin interrupción y a altura constante por toda la mucosa gástrica. En ella la intensidad de la coloración de las granulaciones, la anchura de la banda celular y su situación en las criptas resultan fáciles de determinar. Para hacerlo se contaron las células contenidas en cinco cortes distintos de estómago y en otros cinco cortes de intestino delgado, con un total entre 1200 y 1300 células. El cálculo estadístico se hizo partiendo de la siguiente clasificación convencional: tipo I, las granulaciones son pocas y pálidas; tipo II, las granulaciones están en moderada cantidad y se tiñen claramente; tipo III, granulaciones abundantes e intensamente argentafines; tipo IV, las granulaciones se funden entre sí y ocultan las restantes estructuras celulares.

Se utilizaron 17 ranas (*Ranus sp.*) cuyos pesos fluctuaron entre 50 y 115 g. De ellas 4 se utilizaron como testigos; 5 ranas recibieron menos de 5 mg/Kg. (0.005 en una y 0.5 en cuatro); 4 ranas recibieron 5 mg/Kg. y las 4 ranas restantes recibieron más de 5 mg/Kg. (10 en dos y 15 en otras dos).

RESULTADOS

Las ranas inyectadas mostraron profundas modificaciones en la frecuencia respiratoria, que se aceleró y se hizo más profunda inmediatamente después de la administración de reserpina; además palidecieron intensamente. La intensidad de estas modificaciones estuvo en razón directa a la dosis de reserpina y se mantuvo de 1 a 3 minutos aproximadamente. Luego los animales quedaron en estado de depresión, reaccionando poco y tardíamente a estímulos externos tales como movi-

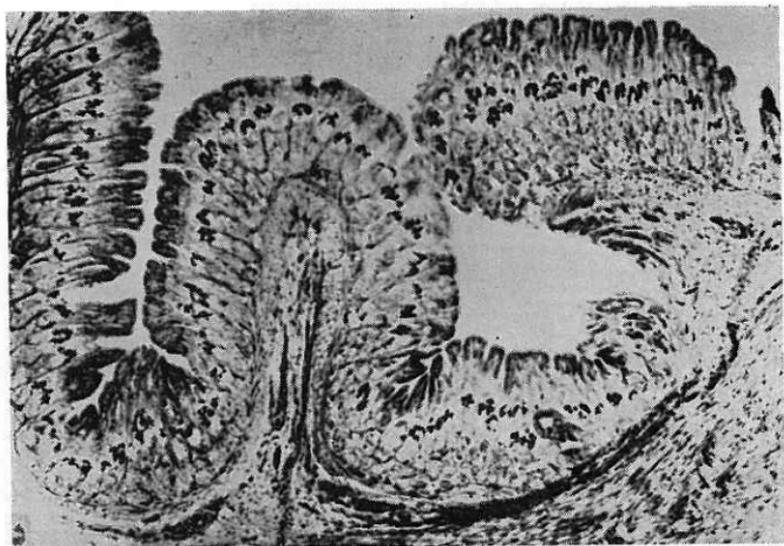


FIG. 1. Corte transversal de la mucosa gástrica de la rana normal. Las células de Kulchitsky aparecen como manchas negras; nótese que están distribuidas formando una línea regular a la misma altura de todas las glándulas.

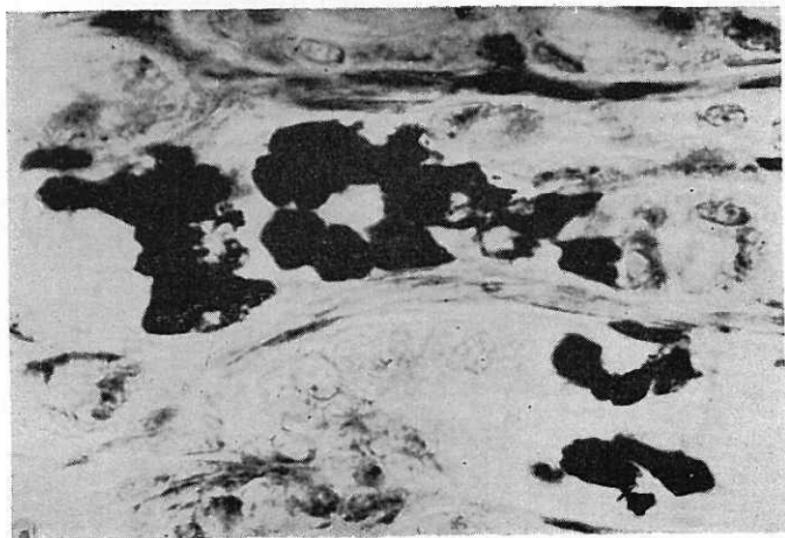


FIG. 2. Fotografía a mayor aumento de dos glándulas gástricas adyacentes, con sus células de Kulchitsky. La intensa coloración con la plata de sus granulaciones intracitoplásmicas se debe a su argentafinidad, base histoquímica de la serotonina.

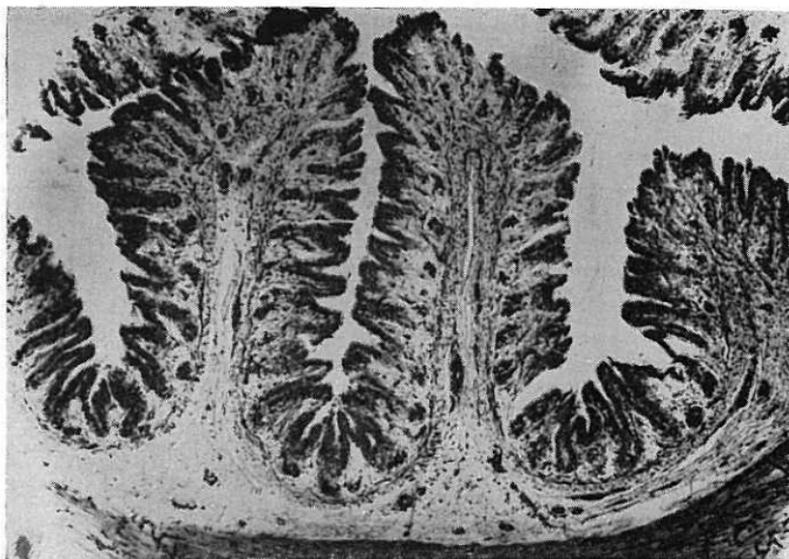


FIG. 3. Corte transversal de la mucosa gástrica de una rana que recibió 5 mg de reserpina por Kg de peso. La línea oscura de células de Kultschitsky ha desaparecido al mismo tiempo que la serotonina.

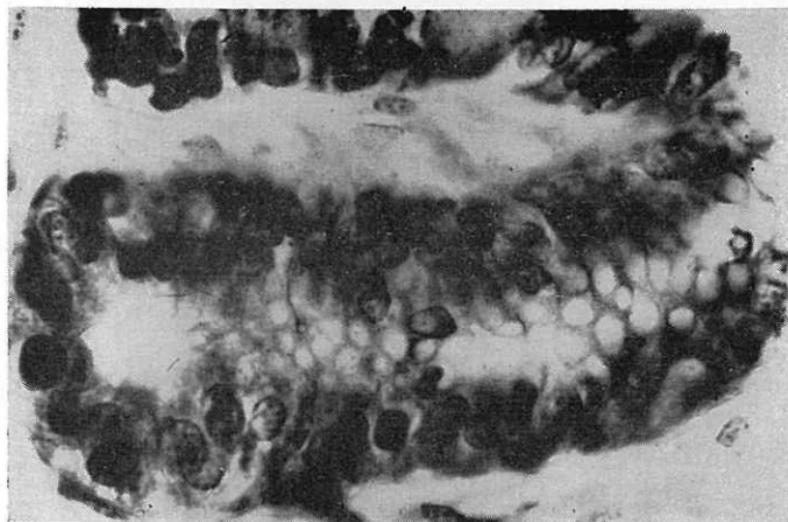


FIG. 4. Una glándula gástrica del corte reproducido en la figura anterior, fotografiada a mayor aumento. No hay células de Kultschitsky; compárese con la figura 2.

mientos y traumas ligeros. Una de las ranas que recibió dosis máxima murió espontáneamente 29 horas después con un cuadro convulsivo e intensa disnea.

Los resultados microscópicos fueron juzgados en relación a: 1) número de células por glándula o cripta; 2) tamaño y forma celulares; 3) topografía celular en las glándulas y criptas; 4) densidad e intensidad de la impregnación granular; 5) polarización granular; y 6) granulaciones extracelulares.

Las ranas testigo mostraron un promedio de 7 células argentafines por glándula gástrica (figs. 1 y 2). En las ranas inyectadas, en cambio, se notó disminución en el número de células argentafines (figs. 3 y 4). Las modificaciones más notables se observaron entre las 48 y las 72 horas.

Las células argentafines del estómago disminuyeron de tamaño en relación directa con la cantidad de reserpina inyectada, alcanzando el menor tamaño entre las 48 y 72 hs. En las ranas que recibieron 5 mg/Kg. y fueron sacrificadas entre 12 y 18 hs. después de inyectadas, se observó que las células argentafines gástricas se encontraban desplazadas al tercio inferior de las glándulas.

La densidad de granulaciones se mantuvo constante en las células argentafines del estómago, pero mostraron muy disminuido el número de granulaciones, en relación con la cantidad de reserpina administrada y con el lapso entre la inyección y la muerte. La intensidad de la impregnación aumentó discretamente en las células argentafines cuando la dosis de reserpina fue alta, pero sólo se mantuvo aproximadamente durante una hora.

Las ranas testigo mostraron un promedio de 14 células argentafines en cada cripta de Lieberkühn. Con la administración de reserpina se observó disminución notable en el número de células argentafines, en relación directa con la cantidad de reserpina inyectada y con el lapso transcurrido entre la inyección y la muerte. También en el intestino la densidad de las granulaciones disminuyó en relación directa con la cantidad de reserpina administrada; la disminución empezó a las 4 hs. y alcanzó el máximo a las 18 hs. Es decir, en el tracto gastrointestinal de la rana, las células argentafines reaccionan ante la reserpina con disminución progresiva y permanente en el número de granulaciones. En relación a la topografía celular, se observó migración desde el tercio medio hasta el inferior de las glándulas en las células argentafines, cuando la dosis de reserpina sobrepasó los 5 mg/Kg.

También la densidad de las granulaciones y la intensidad de la argentafinidad disminuyeron siempre en relación directamente proporcional a la cantidad de reserpina inyectada y al período de tiempo transcurrido.

Granulaciones argentafines extracelulares fueron especialmente notables en las ranas que recibieron 5 mg/Kg. y fueron sacrificadas 12 y 18 hs. después de la inyección. Las granulaciones argentafines eran muy abundantes en la capa muscular y se distribuían sobre todo con gran regularidad entre las fibras lisas, adoptando figura bacilar.

DISCUSIÓN

El hecho comprobado de que en la rana disminuya en intensa proporción el número de granulaciones argentafines contenidas en las células de Kultschitsky, con intensidad proporcional a la cantidad de reserpina administrada y al tiempo transcurrido después de su inyección, apoya firmemente las demostraciones histoquímicas de Lembeck, Barter y Pearse, y Erspamer, según las cuales tales granulaciones representan morfológicamente serotonina.

Los hechos ya conocidos, que se resumen en la introducción de este artículo, y los que acabamos de presentar en él, plantean, sin embargo, un importante problema histofisiológico. El epitelio que reviste el tracto digestivo tiene dos funciones importantes y bien conocidas: de una parte, absorbe los productos difusibles contenidos en la luz del tubo digestivo, para pasarlos de inmediato a los capilares sanguíneos y fondos de saco linfáticos adyacentes al epitelio; de otra parte, elimina muchos productos difusibles contenidos en la sangre y que llegan junto al epitelio gastrointestinal por las arterias. Además, las glándulas del tracto digestivo vierten todos sus variados productos de secreción a la luz del tubo digestivo. Teniendo en cuenta estas circunstancias, no es fácil admitir que las células de Kultschitsky, desparramadas irregularmente en la mayor parte de los animales por toda la superficie del tubo digestivo, elaboren una substancia que actúa muy lejos de ellas, sobre las densas y uniformes capas musculares profundas, situadas detrás de la red vascular linfática, de la membrana propia, de la muscularis mucosae y de la amplia submucosa. En refuerzo de esta opinión para el intestino nos asalta el hecho de que ni en los órganos hematopoyéticos pueden demostrarse células argentafines que segreguen la serotonina de las plaquetas, ni en el cerebro, que elaboren la serotonina local. Por ello emitimos como hipótesis de trabajo que las células de Kultschitsky, del tracto digestivo y sus congéneres en otros lugares del cuerpo son elementos eliminadores, eventualmente almacenadores, de la serotonina que actúa sobre las fibras musculares lisas del organismo. Si tenemos en cuenta la riqueza en serotonina del encéfalo, podemos señalar como probable lugar de elaboración de al menos parte de la serotonina, el tejido nervioso. En el caso del intestino, los plexos de Meissner y Averbach quizá sean su fuente de procedencia.

Si notamos que la curva de vaciamiento de serotonina, obtenida en las experiencias de Shore *et al.* y sus seguidores, no es paralela a la de vaciamiento de granulaciones en las células de Kultschitsky, encontramos un nuevo argumento de apoyo de nuestra hipótesis, según la cual las mencionadas células deben ser eliminadoras de la serotonina hacia la luz del tubo digestivo. También el desplazamiento de las células de Kultschitsky hacia el fondo de las glándulas cuando se inyecta reserpina, parece más aparente que real y relacionado con un cambio en el lugar de la eliminación; probablemente los efectos vasoconstrictores de la

serotonina, liberada bruscamente en grandes cantidades, ocasiona cambios circulatorios que disminuyen la irrigación del cuello de las glándulas y del ápice de las vellosidades, al menos en la rana.

Nos consideramos con información suficiente para suponer que la serotonina debe producirse muy cerca de las fibras musculares lisas sobre las que actúa, quizá en los plexos nerviosos intercalados; que la serotonina activa está fijada en alguna forma estable en las fibras musculares, posiblemente en las granulaciones bacilares argentafines presentes en torno a todas las fibras musculares lisas del organismo; que normalmente la cantidad de serotonina liberada a los intersticios tisulares es fácilmente destruida por las aminoxidasas; que en algunos lugares, en especial a nivel del apéndice ileocecal, en proporción rápidamente decreciente en intestino, estómago, etc., cierta cantidad de serotonina escapa a la oxidación y se elimina a través del epitelio de revestimiento, algunas de cuyas células la almacenan temporalmente (células de Kultschitsky); y que cuando la reserpina excita la liberación de serotonina, puede aumentar el número de células de Kultschitsky o desplazarse aparentemente de su situación normal.

Esta hipótesis es compatible con la persistencia en cantidades considerables de células de Kultschitsky dentro de la mucosa intestinal de animales cuyo intestino y estómago han sido prácticamente vaciados de serotonina; téngase en cuenta que la serotonina dosificada biológicamente es la activa, y que la contenida en las células se tiñe precisamente porque está protegida en alguna forma contra la oxidación. También queremos hacer notar que, cuando se sacrifican los animales cuyo tracto digestivo se muestra vacío de serotonina por los métodos biológicos, existe clarísimo hiperperistaltismo intestinal; y que en ellos las granulaciones argentafines bacilares del músculo liso están presentes en cantidad igual o superior a la normal.

De los experimentos motivo de esta comunicación podemos deducir:

1º Las granulaciones argentafines de las células de Kultschitzky están relacionadas íntimamente con 5-HT; 2º, no puede decidirse con seguridad, sobre la base de los hechos anotados, si las células de Kultschitsky sean elaboradoras o eliminadoras, y eventualmente almacenadoras, de serotonina. Sin embargo, si se comparan las gráficas de cantidad de serotonina dosificada con métodos biológicos y la gráfica de cantidad de granulaciones argentafines intracitoplásmicas con métodos histológicos, se nota suficiente discrepancia como para dudar del posible papel secretor de las células de Kultschitsky y para reforzar la idea de que el epitelio de revestimiento debe ser un lugar de eliminación para la serotonina del tracto digestivo; 3º, existe posibilidad para considerar que las granulaciones extracelulares argentafines, sobre todo las situadas entre las fibras musculares lisas, estén relacionadas también con 5-HT.

BIBLIOGRAFÍA

- Adams, W. E., Steiner, P. E. y Bloch, R. G.: *Malignant adenoma of lung; carcinoma-like tumors with long clinical course.* Surgery, 11: 503-526, 1942.
- Axelrod, J., Brady, R. O., Witkop, B. y Everts, E. C.: *The distribution and metabolism of lysergic acid diethylamide.* Ann. New York Acad. Sc., 66/3: 435-444, 1957.
- Axelrod, J.: *Enzymatic formation of psychotomimetic metabolites from normally occurring compounds.* Science, 134: 343, 1961.
- Ballerini, G. y Cantelli, T.: *Modificazioni istopatologiche renali in corso di trattamento cronico con 5-idrossi-triptamina.* Riv. anat. pat., 11: 14-21, 1956.
- Barter, R. y Pearce, A. G. E.: *Mammalian enterochromaffin cells as the source of serotonin (5-hydroxytryptamine).* J. Path. Bact., 49: 25-31, 1955.
- Benditt, E. P., Wing, R. L., Arase, M. y Roeper, E.: *5-Hydroxytryptamine in mast cells.* Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 90: 303-304, 1955.
- Borger y Bessman: *Serotonina.* Ann. Int. Med., 41: 1, 1957.
- Bumpus, F. M. y Page, I. H.: *Serotonin and its methylated derivatives in human urine.* Biol. Chem., 212: 111, 1955.
- Clara, M.: *Untersuchungen über die basalkörnigen Zellen des Schweines (Sus scrofa dom.)* Zeitschr. mikr. anat. Forsch. 30: 467-493, 1932.
- Clarck, C. T., Weissbach, H. y Udenfriend, S.: *5-Hydroxytryptophan decarboxylase: preparation and properties.* J. Biol. Chem., 210: 139, 1954.
- Comroe, J. H., van Lingen, B., Stroud, R. C. y Roncoroni, A.: *Reflex and direct cardiopulmonary effects of 5/OH-tryptamine (erotonin).* Am. J. Physiol., 173: 379, 1953.
- Cordier, R.: *Recherches morphologiques et expérimentales sur la cellule chromo-argentaffine de l'épithélium intestinale des vertébrés.* Compt. R. Soc. Biol. 36: 427-463, 1926.
- Cordies, R. y Lison, L.: *Etude histochemique de la substance chromoargentaffine de la cellule de Litschitzky.* Bull. Histol. Appl. a la Physiol., 7: 140-148, 1930.
- Correale, P.: *Azione dell'enteramina (5-idrossitriptamina) sulla pressione sistemica e sull'emostasi del ratto.* Arch. Internat. Pharmacodyn. et Thérap., 97: 106-114, 1954.
- Correl, J. T., Lyth, L. F., Long, S. y Vanderpoel, J. C.: *Some physiologic responses to 5-hydroxytryptamine creatinine sulphate.* Am. J. Physiol., 169: 537-544, 1952.
- Davidson, J., Sjoerdsma, A., Loomis, L. N. y Udenfriend, S.: *Studies with the serotonin precursor, 5-hydroxytryptophan, in experimental animals and man.* J. Clin. Invest. 36: 1594-1599, 1957.
- Donaldson, R. M. Jr., Gray, S. J. y Letsou, V. G.: *5-hydroxytryptophan as an intermediate of serotonin biosyntheses in malignant carcinoidosis.* Lancet, 7110: 1002-1003, 1959.
- Erspamer, V. y Asero, B.: *Identification of enteramine, the specific hormone of enterochromaffin cell system, as 5-hydroxytryptamine.* Nature, London, 169: 800-801, 1952.
- Erspamer, V.: *Pharmacological studies on enteramine (5-hydroxytryptamine). IX: Influence of sympathomimetic and sympatholytic drugs on the physiological and pharmacological actions of enteramine.* Arch. Internat. Pharmacodyn., 93: 293-316, 1953.
- Erspamer, V. y Asero, B.: *Isolation of enteramine from extracts of posterior salivary glands of Octopus vulgaris and of Discoglossus pictus skin.* J. Biol. Chem., 200: 311-318, 1953.
- Erspamer, V.: *Pharmacology of indolealkylamines.* Pharmacol. Rev. 6: 425-487, 1954.
- Erspamer, V.: *Il Sistema Cellulare Enterocromaffine e l'Enteramina (5-Idrossitriptamina).* Rendiconti Scient. Farmitalia, 1: 1-193, 1954.
- Erspamer, V.: *El sistema enterocromaffínico y la 5-hidroxitriptamina (enteramina, serotonina).* Triángulo, 2: 129-138, 1956.
- Erspamer, V.: *Some observations on the fate of exogenous 5-hydroxytryptamine (enteramine) in the rat.* J. Physiol. 133: 1-9, 1956.
- Fenichel, R. L. y Seegers, W. H.: *Bovine platelets, serotonin and retraction of bovine plasma clots.* Am. J. Physiol., 181: 19, 1955.
- Freyter, F.: *Virchow's Arch.* 332: 25, 1959.
- Fornaroli, P. y Köller, M.: *Prove sperimentali sull'azione emostatica della 5-idrossitriptamine nell'animale.* Farmaco, ed. sc., Pavia 10: 91-96, 1955.
- Freyburger, W. A., Graham, B. E., Rapport, M. M., Seay, P. H., Govier, W. M., Swoap, G. F. y van der Brook, M. J.: *The pharmacology of 5-hydroxytryptamine (Serotonin).* J. Pharmacol. & Exper. Therap., 105: 80-86, 1952.

- Gaddum, J. H.: *Antagonism between lysergic acid diethylamide and 5-hydroxytryptamine*. J. Physiol., 121: 15, 1953.
- Gaddum, J. H., Hebb, C. O., Silver, A. y Swan, A. A.: *5-hydroxytryptamine: pharmacological action and destruction in perfused lungs*. Quart. J. Exper. Physiol., 38: 255, 1953.
- Gaddum, J. H.: *Drugs Antagonistic to 5-Hydroxytryptamine*. Symposium sobre hipertensión de la Fundación CIBA. p. 75, Boston, Ltle., Brown & Co., 1954.
- Gaddum, J. H. y Giarmar, N. J.: *Preliminary studies on the biosynthesis of 5-hydroxytryptamine*. Brit. Pharmacol., 11: 88-92, 1956.
- Geipel, P.: *Zur Kenntnis des gutartigen Bronchialtumoren*. Franf. Zeitsch. Path., 42: 516-544, 1931.
- Gershon, M. D.: *Histochemical studies of the serotonin specificity of monoamine oxidase*. Anat. Rec., 136: 197, 1960.
- Glenner, G. G. y Lillie, R. D.: *Pepsin release of guinea pigs enterochromaffin substance*. J. Histochem. Cytochem. 7: 204, 1959.
- Goodner, J. T., Berg, J. W. y Watson, W. L.: *The nonbenign nature of bronchial carcinoids and cilindromas*. Cancer 14: 539-546, 1961.
- Grasso, R.: *Nuevos aportes para el esclarecimiento de la función de las células argentafines*. Acción de las vitaminas A, B₁, B₂, B₆ y D, sobre las células argentafines del intestino de la rata albina. Inst. Invest. Cien. Biol. 1: 241-269, 1951.
- Grasso, R.: *Sobre las células argentafines de la uretra y de la glándula prostática*. Arch. Histol. Norm. y Pat., Buenos Aires. 5: 227-270, 1954.
- Greco, F. del, Masson, G. M. C. y Corcoran, A. G.: *Arterial pressure and renal functions during intravenous infusion of serotonin in rats*. Federation Proc., 15: 415-416, 1956.
- Hamlin, K. E. y Fischer, F. E.: *Synthesis of 5-Hydroxytryptamine, Communications to the editors*. J. An. Chem. Sc. 73: 5007-5008, 1951.
- Hanson, A. y Serin, F.: *Determination of 5-hydroxy-indole-acetic acid in urine: its expression in patients with malignant carcinoids*. Lancet, 2: 1359-1361, 1955.
- Haverback, B. J. y Bogdanski, D. F.: *Gastric mucosal erosion in the rat following administration of the serotonin precursor, 5-hydroxytryptophan*. Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 95: 392-393, 1957.
- Hedinger, V. C. y Langemann, H.: *Ausgesprochene Thrombocytose bei Ratten unter Behandlung mit 5-Oxytryptamin*. Schweiz. Med. Wochenschr., 85: 368, 1955.
- Hedinger, C. y Langemann, H.: *Nierenschädigungen mit Rindennekrosen bei Ratten unter Behandlung mit 5-Oxytryptamin; weiterer experimenteller Beitrag zur Frage der endokrinen Aktivität der Karzinoide*. Schweiz. Med. Wochenschr., 85: 541-544, 1955.
- Hedinger, C. y Veraguth, F.: *Magenschwüre bei Ratten unter Behandlung mit 5-Hydroxytryptamin*. Schweiz. Med. Wochenschr., 87: 1175-1176, 1957.
- Heschl, R.: *Müeber ein Cylindrom der Lunge*. Wien. Med. Wochenschr., 27: 385-390, 1877.
- Hoeschen, T.: *Ueber Menge und Verteilung der basalgekörnten Zellen im Darm del Meeschweinchens*. Zeitschr. Zellforsch. Mikr. Anat., 27: 701-719, 1937.
- Kevoorkian, J.: *Staining reactions of bacigranular and carcinoid tumor cells: with special reference to modified Giemsa method*. Am. J. Clin. Path., 30: 37-44, 1958.
- Klem, E.: *Ueber die Wirkung von Insulin, Elytiran und Tonephin auf die basalgekörnten Zellen im Dar der Wiessen Ratte*. Zeitschr. Zellforsch. Mikr. Anat. 26: 387-395, 1937.
- Kultschitzky, N.: *Zur Frage über den Bau del Darmkanals*. Arch. Mikr. Anat. 49: 7-35, 1897.
- Lembeck: *5-Hidroxtryptamine in a carcinoid tumour. Letter to the editor*. Nature, London, 172: 910-911, 1953.
- Lillie, R. D. y Glennea, G. G.: *Histochemical reactions in carcinoid tumors of the human gastrointestinal tract*. Am. J. Path. 36: 623-652, 1960.
- MacDonald, R. A., Robbins, S. L. y Mallory, G. K.: *Dermal fibrosis following subcutaneous injections of serotonin creatinine sulphate*. Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 97: 334-337, 1958.
- MacDonald, R. A., Robbins, S. L. y Mallory, G. K.: *Morphologic effects of serotonin (5-hydroxytryptamine)*. A.M.A. Arch. Path. 65: 369-377, 1958.
- MacDonald, R. A., Robbins, S. L. y Mallory, G. K.: *Morphologic effects of serotonin: relation to cardiac lesions of the carcinoid syndrome*. Resumen en Clin. Res., 6: 23, 1958.
- Masson, P.: *La glande endocrine de l'intestine chez l'homme*. C. R. Acad. Sc., Paris, 158: 59-61, 1914.

- McIsaac, W. M. y Page, I. H.: *New metabolites of serotonin in carcinoid Urine*. Science, 128: 537, 1958.
- Muller, H.: *Zur Entetehungsgeschichte der Bronchialerweiterungen*. Ermsleben a H. A. Busch. 1882.
- Oberndorfer, S.: *Karzinoid Tumoren del Dünndarms*. Frankfurt, Zeitschr. Path. 1: 426-432, 1907.
- Page, I. H.: *Neurochemistry and serotonin: a chemical fugue*. Ann. New York Acad. Sc. 66/3: 592-601, 1957.
- Page, I. H.: *Serotonin (5-hydroxytryptamine)*. Physiol. Rev., 34: 563-588, 1954.
- Page, I. H., Corcoran, A. C., Udenfriend, S., Sjoerdsma, A. y Weissbach, H.: *Argentafinoma as endocrine tumour*. Lancet. 1: 198-199, 1955.
- Page, E. W. y Glendenning, M. B.: *Production of renal cortical necrosis with serotonin (5-hydroxytryptamine) Theoretical relationship to abruptio placentae*. Obst. & Gynec. 5: 781-788, 1955.
- Page, I. y McCubbin, J. W.: *The variable arterial pressure response to serotonin in laboratory animals and man*. Circulation Res., 1: 354, 1953.
- Parratt, J. R. y West, G. B.: *5-Hydroxytryptamine and tissue mast cells*. J. Physiol. 137: 169-178, 1957.
- Parratt, J. R. y West, G. B.: *Tissue histamine and 5-hydroxytryptamine*. J. Physiol., 132: 40-41, 1956.
- Pearse, A. G. E.: *A contribution to the chemistry of mammalian enterochromaffin cells*. Rev. Istoch. norm. pat., 2: 103-110, 1956.
- Perrone, O. y Acosta, Ferreira, W.: *Sobre la existencia de células argentafines en el timo del pollo y del ñandú*. Arch. Soc. Biol. Montevideo. 15: 120-122, 1949.
- Pletscher, A., Shore, P. A. y Brodie, B. B.: *Serotonin release as a possible mechanism of reserpine action*. Science, 122: 347, 1955.
- Pletscher, A., Shores, P. A. y Brodie, B. B.: *Serotonin as a mediator of reserpine action in brain*. J. Pharmacol. Exp. Therap. 816: 84-89, 1955.
- Rambo: *The syndrome of intestinal carcinoid with massive hepatic metastases and endocardial fibrosis with tricuspid and pulmonic stenosis: Its recognition and significance*. A. J. Path. 30: 625, 1954.
- Rand, M. y Reid, G.: *Source of serotonin in serum*. Nature, Londres, 168: 385, 1951.
- Rapport, M. M.: *Serum vasoconstrictor (serotonin)*. V. *The presence of creatinine in the complex. A proposed structure of the vasoconstrictor principle*. J. Biol. Chem., 180: 961, 1949.
- Rapport, M. M., Green, A. A. y Page, I. H.: *Partial purification of the vasoconstrictor in beef serum*. J. Biol. Chem., 174: 735, 1948.
- Ratzenhofer, M. y Lembeck, F.: *Ueber en Gehalt an 5-Oxytryptamine in Carcinoiden del Darmtraktes*. Zeitschr. Krebsforsch., 60: 169, 1954.
- Río Horta, P. del: *El método del carbonato argéntico. Revisión general de sus técnicas y aplicaciones en histología normal y patológica*. Arch. Histol. Norm. y Pat., Buenos Aires, 1: 165-205 y 329-361, 1942-1943 y 2: 231-244 y 557-604, 1943-1945.
- Salgado, E. y Green, D. M.: *Renal necrosis induced in rats by serotonin*. Am. J. Physiol. 183: 657, 1955.
- Schneckloth, M. D., Irvine, H., Page, A. y Concoran, A. C.: *The malignant carcinoid syndrome*. Clinical conference Circulation 19: 766-772, 1959.
- Schumann, G.: *Experimentelle Untersuchung über die basalgekörnten Zellen im Darmepithel des Meerschweinchens*. Zeitscher. Zellforsch. Mikr. Anat., 24: 540-551, 1936.
- Schmidt, J. E.: *Beiträge zur normalen und pathologischen Histologie einiger Zellarten der Schleimhaut des menschlichen Darmkanals*. Arch. Mikrosk. Anat. 66: 12-40, 1905.
- Sjoerdsma, A., Smith, T. E., Stevenson, T. D. y Udenfriend, S.: *Metabolism of 5-hydroxytryptamine (serotonin) by monamine oxidase*. Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 89: 36, 1955.
- Sjoerdsma, A. y Udenfriend, S.: *Studies on indole metabolism in patients with malignant carcinoid (argentafinoma)*. J. Clin. Invest. 34: 914-915, 1955.
- Shore, P. A., Pletscher, A., Tomich, E. G., Kunzman, R. y Brodie, B. B.: *Release of blood platelets serotonin by reserpine and lack of effect on bleeding time*. J. Pharmacol. Exp. Therap., 117: 232-235, 1956.
- Shore, P. A., Pletscher, A., Tomich, E. G., Carlsson, A., Kuntzman, R. y Brodie, B. B.: *Role of brain serotonin in reserpine action*. Ann. N. Y. Acad. Sc., 66/3: 609-617, 1957.

- Shore, P. A., Silver, S. A. y Brodie, B. B.: *Interaction of reserpine, 5-hydroxytryptamine (serotonin) and lysergic acid diethylamide in the central nervous system*. Science, 122: 284, 1955.
- Stoll, W. A.: *Lysergsäure-diäthylamid, ein Phantastikum aus der Mutterkorngruppe*. Schweiz. Arch. J. Neurol. u. Psychiat., 60: 279, 1947.
- Stout, A. P.: *Carcinoid tumors of the rectum derived from Erspamer's pre-enterochrome cells*. Am. J. Path., 18: 993, 1942.
- Sugaar, S., Fried, G., Kalberer, J. y Antopol, W.: *The effect of hallucinogens on experimental hypertension*. Anat. Rec. 133: 432, 1959.
- Törö, E.: *Bedeutung und Entstehung der Zellgranula in der Darmresorption*. Zeitschr. Anat. 9: 41-38, 1931.
- Twarog, B. M. y Page, I. H.: *Serotonin content of some mammalian tissues and urine and method for its determination*. Am. J. Physiol. 175: 157, 1953.
- Udenfriend, S., Bogdanski, D. F. y Weissbach, H.: *Increase in tissue serotonin by administration of its precursor, 5-hydroxytryptophan*. Federation Proc., 15: 493, 1956.
- Udenfriend, S. y Weissbach, H.: *Studies on serotonin (5-hydroxytryptamine) in platelets*. Federation Proc., 13: 412, 1954.
- Udenfriend, S. y Titus, E.: *The 5-Hydroxyindole Pathway of Tryptophan Metabolism. Amino Acid Metabolism*. The John Hopkins Press. Baltimore, pp. 945, 1955.
- Udenfriend, S., Titus, E. y Weissbach, H.: *The identification of 5-hydroxy-3-indolacetic acid in normal urine and a method for its assay*. J. Biol. Chem., 216: 499, 1955.
- Udenfriend, S., Weissbach, H. y Bogdanski, D. F.: *Biochemical findings relating to the action of serotonin*. Ann. New York Acad. Med. Sc., 66/3: 602-608, 1957.
- Udenfriend, S., Weissbach, H. y Clark, C. T.: *The estimation of 5-hydroxytryptamine (serotonin) in biological tissues*. J. Biol. Chem. 215: 337, 1955.
- Vetter, J.: *Experimentelle Untersuchungen über das Verhalten der basalgekörnten Zellen im Darmepithel der domestizierten Ratt bei verminderten und gesteigerter Vitaminzufuhr*. Zeitschr. Mikr. Anat. Forsch. 42: 555-577, 1937.
- Vetter, J.: *Ueber das Verhalten der basalgekörnten Zellen bei hungernden Tieren (Meerschweinchen, weisse Ratten und weisse Mäuse)*. Zeitschr. Mikr. Anat. Forsch. 43: 623-632, 1938.
- Vialli, M. y Erspamer, V.: *Sulle ragioni chimiche colorate dell' enteramine. I. Ricerche su estretti acetonic di mucosa gastrointestinale*. Arch. di sc. biol., 28: 101-1, 1942.
- Vialli, M. y Erspamer, V.: *Cellule enterocromaffini e cellule basigranulose acidofile nei vertebrati*. Zschr. Zellforsch., 19: 743, 1933.
- Waugh, D. y Pearl, M. J.: *Serotonin-induced acute nephrosis and renal cortical necrosis in rats*. Am. J. Path., 36: 31-455, 1960.
- Waalkes, T. P., Weissbach, H., Bozicevich, J. y Udenfriend, S.: *Serotonin and histamine release during anaphylaxis in rabbit*. J. Clin. Invest. 36: 1115-1120, 1957.
- Weiss, L. y Ingram, M.: *Adenomatoid bronchial tumors. A consideration of the carcinoid tumors and the salivary tumors of the bronchial tree*. Cancer, 14: 161-178, 1961.
- Wilkins, R. W.: *Serotonin, antiserotonins and hypertension*. New England J. Med., 255: 115-118, 1956.
- Wilkins, W. W., Judson, W. E. y Stanton, J. R.: *Preliminary observations on Rauwolfia serpentina in hypertensive patients*. Proc. New England Cardiovasc. Soc., Mass. Heart Ass., 1951-52.
- Williams, E. D. y Azzopardi, J. G.: *Tumours of the lung and the carcinoid syndrome*. Thorax, 15: 30-36, 1960.
- Wooley, D. W. y Sahw, E.: *A biochemical and pharmacological suggestion about certain mental disorders*. Proc. Nat. Acad. Sc., 40: 228, 1954.
- Zanardi, F.: *Sulla cosiddetta ghiandola enterocromaffine*. Arch. ital. Chir. 37: 749-782, 1934.
- Zbinden, G.: *Biochemische, funktionelle und morphologische Organveränderungen durch Beeinflussung des 5-Hydroxytryptamin Stoffwechsels*. Erg. all. Path. und Path. Anat., 39: 255-259, 1960.
- Zucker, M. B.: *Platelet agglutination and vasoconstriction as factors in spontaneous hemostasis in normal, thrombocytopenic, heparinized and hypotrombinemic rats*. Am. J. Physiol., 148: 275, 1947.
- Zucker, M. B. y Borrelli, J.: *Concentration of serotonin in serum in thrombocytopenia, pseudoheophilia and thrombocytosis*. Am. J. Clin. Path. 26: 13-20, 1956.

COMENTARIO AL TRABAJO "ACCION DE LA RESERPINA
SOBRE LAS CELULAS DE KULTSCHITSKY"*

DR. GUILLERMO SOBERÓN

EL TRABAJO que acabamos de escuchar es representativo de una tendencia que ha surgido en los últimos años en el campo de la investigación biológica. En efecto, el estudio de la morfología de células y tejidos dio gran información más aún cuando se relacionaron cambios en las características observadas con alteraciones de la función expresadas en forma de enfermedad. Posteriormente los investigadores traspasaron las fronteras de la membrana celular al romper la unidad fundamental, separaron las llamadas partículas subcelulares las que a su vez fueron sometidas a diferentes procedimientos de desintegración, y así se aislaron moléculas cuyo funcionamiento se exploró en el tubo de ensaye; en esta forma se aprendió acerca de numerosas reacciones químicas que se operan en el interior de la célula las que fueron eslabonadas unas con otras a fin de integrar lo que hoy entendemos por vías metabólicas. Sin embargo, este continuo proceso de disección y análisis necesariamente nos apartó en algunos casos de las condiciones fisiológicas que operan en una célula intacta ya que muchas de las reacciones demostradas en el tubo de ensaye quizá no encuentren en una célula viva el medio ambiente requerido para su operación. La tendencia actual es a correlacionar y a integrar los conocimientos derivados de esta manera de proceder con los cambios de la estructura celular. La histoquímica, que pretende poner de manifiesto reacciones químicas en células completas se ha constituido pues, en un elemento valioso del biólogo experimental del presente.

Los doctores Barroso Moguel y Vargas Solano atribuyen la propiedad que tienen ciertas células de reducir las soluciones de plata (sin que sea necesario agregar ningún otro reductor) a la presencia de serotonina y de catecolaminas. Aunque existe evidencia circunstancial de que este puede ser el caso, nos preocu-

* Leído por su autor en la sesión ordinaria del 13 de marzo de 1963.

pa una afirmación tan categórica en relación con la especificidad de la prueba, puesto que es bien sabido que la reducción de sales amoniacales de plata, que realizada en el tubo de ensaye se conoce con el nombre de prueba de Tollens, puede ser causada por gran número de substancias reductoras.

No obstante, el carácter sagaz de los autores les ha incitado a probar mediante un ingenioso experimento que la argentafinidad de las células de Kultschitsky es debida a su contenido en serotonina. Partiendo del hecho previamente descrito que la reserpina causa liberación de serotonina a partir de los tejidos que la contienen, inyectan este fármaco en animales de experimentación y valoran subjetivamente su efecto sobre las características de la argentafinidad de las células que son motivo de su interés. El resultado positivo que nos han descrito indudablemente representa otra evidencia indirecta del aserto que establecen. A este respecto, ellos explican que la distribución de las células de Kultschitsky que se aprecia después de la administración de reserpina puede ser en parte debida a fenómenos de vasoconstricción inherentes a la liberación de serotonina; es por eso, que estimo que un control experimental obligado sería el estudiar el mismo tipo de animales, a los que se hubiese inyectado un vasoconstrictor de diferente tipo. Asimismo sería por demás interesante el estudio del comportamiento de otros elementos argentafines en el modelo experimental diseñado, lo que estimamos factible, ya que uno de los autores incluso ha tenido ocasión de informar la presencia de estos elementos en glándulas salivales, pancreáticas y sudoríparas .

Basándose en las características de sus hallazgos y en las diferencias cronológicas en los cambios de los sitios de acción de la serotonina así como en diferencias cronológicas en los cambios de la argentafinidad de las células de Kultschitsky en relación con la liberación del resultado obtenido por Shore, los autores emiten interesante la hipótesis de que estas células funcionan fundamentalmente como almacenadoras y eliminadores de serotonina, siendo que este compuesto debe sintetizarse principalmente en tejido nervioso.

Los siguientes hechos no concuerdan con esta manera de pensar:

1) Tenemos la impresión que la enzima 5-hidroxitriptofanodescarboxilasa que da como producto la 5-hidroxitriptamina se encuentra en mucosa intestinal, aunque no conocemos si se ha precisado dentro de este tejido qué tipo de célula la contiene. De existir esta enzima en las células de Kultschitsky pensamos que no sería posible atribuirles el papel exclusivo de almacenadoras y eliminadoras, puesto que participarían también en el proceso biosintético.

2) Los sujetos afectados de tumor carcinoide tienen gran sensibilidad a la administración de triptófano y presentan manifestaciones de intoxicación por serotonina, lo cual indica necesariamente que el aminoácido es convertido por aquellas células que muestran gran actividad metabólica y que probablemente

son las de origen tumoral lo cual implica también su participación en la biosíntesis.

La pregunta crítica que los autores se han formulado pienso que puede ser satisfactoriamente contestada mediante el uso de precursores de serotonina marcados con elementos radiactivos, en efecto existe en disponibilidad triptófano, 5-hidroxitriptófano y 5-hidroxitriptamina de alta radioactividad específica. Por auto-radiografía se podría indudablemente demostrar la relación de radioactividad con argentafinidad en las condiciones experimentales empleadas. Usando este tipo de métodos se ha demostrado que las plaquetas funcionan como transportadores de serotonina y de catecolaminas, y que la captación de 5OH triptófano por el tejido cerebral es dependiente del aporte de energía, no así la de serotonina.

Estaremos pendientes de las aportaciones futuras de los Dres. Barroso y Vargas en tema de tan gran interés.