

SIMPOSIO

ALGUNOS ASPECTOS BIOQUIMICOS Y ELECTROFISIOLOGICOS DE LA EPILEPSIA

I INTRODUCCION

GUILLERMO MASSIEU *

La palabra "epilepsia" deriva del griego y significa apoderarse o posesionarse y se ha empleado desde la época de Hipócrates. Actualmente se prefiere el uso de las denominaciones "trastornos o perturbaciones paroxismales" o bien "ataques", según Millichap,³ para evitar los estigmas o las connotaciones siniestras que se asocian con el término epilepsia. Hipócrates criticó las antiguas creencias que consideraban como enfermedad sagrada a esta afección, así como las ideas de que se debía a que los demonios o dioses se posesionaban del individuo; opinó que la epilepsia era una enfermedad del cerebro, debida a causas naturales y que debía ser

tratada con drogas y dietas y no por medio de la magia.

En un simposio denominado *Evaluación de la terapia con drogas en las enfermedades neurológicas y de los sentidos*² se adoptó la siguiente amplia definición: "La epilepsia es un síntoma complejo caracterizado por aberraciones paroxismales recurrentes de la función cerebral, generalmente breves y autolimitadas".

Hay que recordar que desde el punto de vista clínico existen diferentes tipos o cuadros de ataques convulsivos u otros trastornos que se incluyen comúnmente dentro del término "epilepsia",³ tales como el *grand mal* o el estado de convulsiones generalizadas, el *status epilepticus*, los espasmos mioclónicos, el *petit mal* y *petit mal status*, trastornos debidos a la dismi-

* Académico numerario. Centro de Investigación y Estudios Avanzados. Instituto Politécnico Nacional.



1 Epilépticos caminando hacia la derecha. (Grabado de Brueghel.)

nución de la potencia muscular, ataques mioclónicos, ataques abortivos mayores o ataques psicomotores.

En este simposio se describen principalmente los resultados de trabajos experimentales en animales, con el empleo de la metodología bioquímica y técnicas electrofisiológicas. Tales investigaciones son indispensables para dilucidar los fenómenos íntimos que se asocian con el desencadenamiento de estados que pueden considerarse como epilepsia experimental. Son además el paso indispensable para llegar al tratamiento de la epilepsia en seres humanos, con bases científicas sólidas.

Por otra parte con respecto al tratamiento, cabe recordar las extravagantes formas empleadas para curar la epilepsia, algunas de las cuales llegaron a ser motivo de la atención de los artistas. Uno de ellos, Brueghel, de acuerdo con los grabados que se incluyen (fig. 1 y 2), indica cómo a los afectados de ataques epilépticos (posiblemente de *grand mal*), los sometían a un proceso de caminatas de ida y vuelta, a lo que se añadía sonidos musicales por medio de una gaita, aplicados directamente al oído.

Todavía existe mucho empirismo en el tratamiento por drogas de la epilepsia en



2 Epiléticos caminando hacia la izquierda. (Grabado de Bruegel.)

humanos. El comienzo del uso del bromuro de sodio en 1857 como un anticonvulsivante efectivo y el uso de fenobarbital en 1912, cuyas virtudes fueron descubiertas por azar, estableció una nueva era en el tratamiento de la epilepsia.

En el caso de México y según datos proporcionados por el Instituto Nacional de Neurología, dos por ciento de la población total sufre de una u otra forma de epilepsia. Esta cifra sitúa a la epilepsia como uno de los problemas más importantes de salud pública en nuestro país y esta circunstancia hace todavía más necesario el que se redoblen los esfuerzos en inves-

tigación tanto básica como clínica, con el fin de coadyuvar a su solución.

Según Millichap³ la difenilhidantoína sódica fue desarrollada como resultado de un estudio de compuestos anticonvulsivantes potenciales en animales de experimentación, por Putnam y Merritt en 1937.⁴ A la fecha, sin embargo, poco se conoce del modo íntimo de acción de estos compuestos, aunque desde las primeras investigaciones de Tower,⁶ Quastel y Wheatley,⁵ se conocen algunas acciones de los barbitúricos, las hidantoínas, las oxazolidinedionas y las succinimidadas, por ejemplo, sobre el metabolismo oxidativo,

acción directa físico-química en membranas excitables, electrolitos y metabolismo ácido base, y así mismo sobre la acetilcolina.

Cabe agregar un grupo de drogas anticonvulsivantes que fueron estudiadas y sintetizadas por Carvajal, Russek, Tapia y Massieu,¹ las cuales son derivados de la pirrolidinona (ácido γ -amino-butírico cíclico), que mostraron notable efectividad, de acuerdo con los estudios llevados a cabo en animales de experimentación. Los trabajos de Tapia y sus colaboradores indican que posiblemente estas drogas actúan como GABA-miméticos.

II ASPECTOS BIOQUIMICOS DE LA EPILEPSIA

RICARDO TAPIA IBARGÜENGOYTIA *

Con objeto de exponer cuáles son las posibles alteraciones bioquímicas subyacentes en la epilepsia, consideraremos inicialmente los aspectos fundamentales de la transmisión sináptica y del papel que los fenómenos bioquímicos juegan en ella. Antes de hacerlo, sin embargo, es pertinente aclarar que este trabajo no pretende ser una revisión exhaustiva de todos los posibles mecanismos bioquímicos que pueden estar involucrados en la aparición de convulsiones, sino más bien un análisis del posible papel de ciertos mecanismos inhibidores de la actividad neuronal, cuyos aspectos bioquímicos han sido estudiados

* Académico numerario. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México.

REFERENCIAS

1. Carvajal, G.; Russek, M.; Tapia, R. y Massieu, G.: *Anticonvulsant action of substances designed as inhibitors of γ -amino-butyric acid- α -ketoglutaric acid transaminase*. *Biochem. Pharmacol.* 13:1059, 1964.
2. Forster, F. M. (Ed.): *Report of the Panel on Epilepsy. Evaluation of Drug Therapy*. Wisconsin, Univ. of Wisconsin Press, 1961, p. 91.
3. Millichap, J. G.: *Physiological pharmacology*. Nueva York, Academic Press. 2:97, 1965.
4. Putnam, J. T. y Merritt, H. H.: *Experimental determination of anticonvulsant properties of some pbenyl derivatives*. *Science*. 85:525, 1957.
5. Quastel, J. G. y Wheatley, A. H. M.: *Narcotics and oxidations of the brain*. *Proc. Roy. Soc.* 112:60, 1932.
6. Tower, D. B.: *The status of the medical treatment of seizures*. En: *Modern Trends in Neurology*. Williams, D. (Ed.). Nueva York, Harper (Hoeber), 1957, p. 317.

en el laboratorio del autor, en la producción de la actividad convulsiva.

Transmisión sináptica

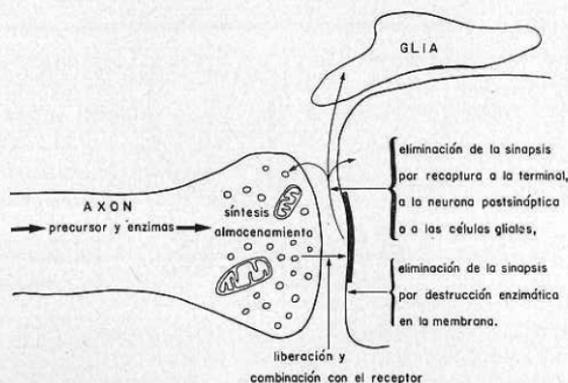
El sistema nervioso central funciona fundamentalmente mediante un número muy elevado de neuronas (en el hombre aproximadamente 10^{10}), las cuales se comunican entre sí en un número astronómico de combinaciones. El lenguaje que las neuronas usan para comunicarse es un lenguaje de impulsos eléctricos. Sin embargo, se conoce desde hace bastante tiempo que el axón, o prolongación a través de la cual la neurona envía el impulso nervioso y que hace contacto con la siguiente neurona, no se comunica física-

mente con la membrana de la siguiente célula nerviosa, sino que existe un hueco (de aproximadamente 200 Å) entre la terminal axónica y dicha membrana, hueco que la corriente eléctrica no puede pasar. Este sitio de comunicación entre dos neuronas, que posee una especialización estructural bien conocida, tanto en la terminación como en la neurona que recibe la comunicación, es conocido, técnicamente, con el nombre de sinapsis (fig. 1).

El paso del impulso nervioso de una célula nerviosa a otra, necesita por eso de una forma de expresión que funcione como puente para cruzar el hueco sináptico. La manera como esto ocurre implica una asociación o acoplamiento entre un fenómeno eléctrico y un fenómeno bioquímico. En efecto, lo que transmite el impulso nervioso entre dos neuronas es una sustancia, un metabolito que, como cualquiera en una célula viva, debe ser sintetizado mediante una maquinaria enzimática, pero que, además, como cualquier mensajero, debe salir de la célula y llegar a la siguiente.

El conjunto de estos eventos constituye el mecanismo central de la comunicación interneuronal. Desde hace varios años se sabe que tal comunicación puede ser positiva (excitación de la neurona postsináptica) o negativa (inhibición de la neurona postsináptica) lo cual ha originado la idea de que la actividad del sistema nervioso se regula no sólo por una excitación activa de las neuronas, sino también, y quizá más efectivamente, mediante la inhibición de las neuronas. En el esquema general de la figura 1, la diferencia entre las comunicaciones excitadora e inhibitora depende de la naturaleza del transmisor y del receptor.

Estos conceptos han llevado a considerar que un transmisor sináptico puede ser inhibitoro o excitador, según el efecto que produzca sobre la neurona postsináptica. Sin entrar en detalles sobre los criterios para considerar a un metabolito como un transmisor sináptico, se acepta en general que en el sistema nervioso central de vertebrados la acetilcolina es un transmisor excitador y el ácido γ -aminobutírico (GABA) un transmisor inhibitoro.



1. Esquema de la transmisión sináptica.⁶

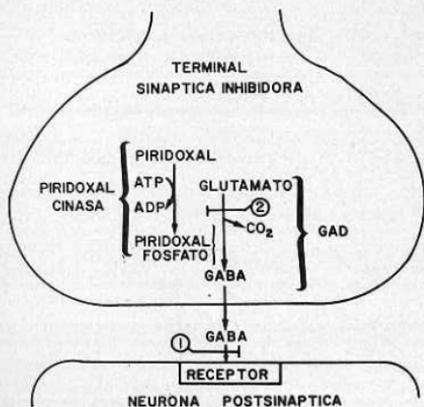
La inhibición neuronal, el GABA y la epilepsia

Es difícil negar que el funcionamiento del sistema nervioso está sujeto a un estricto control o regulación. Es posible afirmar inclusive que ciertas deficiencias en los mecanismos reguladores son probablemente las responsables de muchos padecimientos neurológicos o mentales. Así, desde un punto de vista mecanístico, las convulsiones pueden ser definidas como la pérdida del control o regulación de la excitabilidad cerebral, resultante en contracciones musculares involuntarias. En términos generales, y tomando en cuenta la existencia de los dos tipos de transmisión sináptica, la excitadora y la inhibidora, es posible visualizar al menos dos sistemas de regulación, que implican dos mecanismos diferentes de pérdida de dicha regulación. El primero de ellos sería que las neuronas excitadoras regulen la excitabilidad, y por consiguiente, que cuando haya convulsiones, el evento inicial

sea un aumento en la actividad de estas neuronas. Si bien es posible que las neuronas excitadoras aumenten su actividad y se produzcan convulsiones, como parece ocurrir cuando se aplica un electrochoque o cuando se administra metrazol,^{1, 2} parece poco probable que este mecanismo funcione en condiciones normales, a menos que se acepte que se puede ejercer una regulación mediante falta de actividad, lo cual es obviamente contradictorio. En cambio, el otro posible mecanismo de regulación de la excitabilidad, el de control por inhibición, parece mucho más probable.^{3, 4} Según este mecanismo, las neuronas inhibidoras mantienen constantemente inhibidos ciertos circuitos neuronales directamente involucrados en la contracción muscular.

De acuerdo con esta idea, se puede postular que el transmisor sináptico inhibitor, liberado de las neuronas inhibidoras correspondientes, mantiene constantemente regulada la excitabilidad cerebral, y por lo tanto, que cualquier fenómeno que interfiera con su papel funcional en la sinapsis determinará la aparición de convulsiones.

Múltiples evidencias experimentales, que han sido resumidas recientemente,⁵ indican que el transmisor sináptico inhibitor más importante cuantitativamente en el sistema nervioso central de vertebrados es el GABA; en la figura 2 se señalan los mecanismos más factibles de interferencia con su función en las sinapsis. Si la hipótesis de control de la excitabilidad por inhibición es cierta, cualquiera de ellos debe resultar en la aparición de convulsiones. A continuación se revisarán las evidencias experimentales que indican que tal predicción es correcta.



2 Síntesis del ácido alfa-aminobutírico (GABA) en las terminales sinápticas inhibitoras, en el sistema nervioso central de mamíferos.

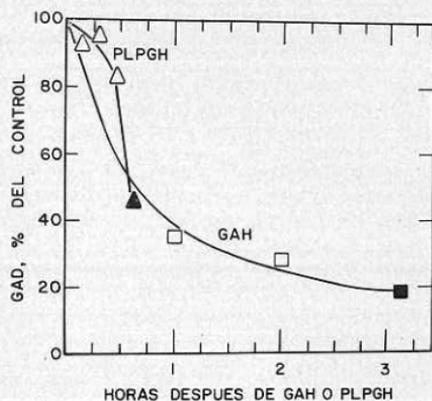
a) *Bloqueo del receptor al GABA* (mecanismo (1), figura 2). Si la combinación del GABA con su receptor en la neurona postsináptica se bloquea, obviamente no pueden ocurrir los cambios iónicos que resultan en la inhibición, ya que éstos se producen como resultado de la interacción del GABA con su receptor. Se conocen al menos dos sustancias que tienen este tipo de efecto: la bicuculina y la picrotoxina. El efecto bloqueador de ambas drogas, específicamente sobre el receptor al GABA, ha sido demostrado con técnicas neurofisiológicas basadas en la medición de la actividad de una sola neurona, bajo la acción del GABA y de dichas drogas, aplicadas con una micropipeta mediante el sistema conocido como iontoforesis.^{6, 7} Estas dos drogas son convulsivantes muy poderosos cuando se administran sistémicamente a animales de experimentación.^{2, 4, 8}

b) *Inhibición de la actividad de la descarboxilasa glutámica* (mecanismo (2), figura 2). La enzima responsable de la síntesis de GABA es la glutamato descarboxilasa (GAD), la cual está concentrada en las terminales sinápticas,^{9, 10} especialmente en regiones cerebrales inhibitorias.¹¹ Una inhibición de la GAD, por lo tanto, es de esperarse que resulte en una menor concentración de GABA en el espacio intersináptico y, como consecuencia, en una disminución de la combinación del aminoácido con el receptor y en una menor inhibición. Existen múltiples evidencias experimentales que indican que cuando la actividad de la GAD disminuye ocurren convulsiones. Algunas de ellas se revisan a continuación.

Se conoce un número muy elevado de sustancias que inhiben la actividad de la GAD *in vivo*, y todas ellas producen convulsiones.¹² Una pequeña parte de esta

Cuadro 1 Cambios en la actividad de la glutamato descarboxilasa (GAD) y la concentración de ácido γ -aminobutírico en el cerebro de animales tratados con varias sustancias convulsivantes, sacrificados en el momento de las convulsiones

Tratamiento	Porcentaje del valor testigo respectivo		Especie
	GAD	GABA	
Acido hidroxámico antranílico	57	56	Rata
Oxígeno a alta presión	75	81	Rata
Tiosemicarbazida	74	87	Rata
Tiosemicarbazida	80	77	Pollo
Isonicotinil-hidrazida	63	75	Pollo
Piridoxal fosfato- γ -glutamil hidrazona	58	66	Ratón
Alilglicina	75	40	Rata
1,1-dimetilhidrazina	25	63	Rata
Acido mercaptopropiónico	79	57	Rata
Acido aminooxiacético	37	141	Ratón
γ -glutamil hidrazida	18	575	Ratón



3. Efecto del tratamiento con alfa-glutamil hidrazida (GAH) y con piridoxal fosfato-alfa-glutamil hidrazona (PLPGH) sobre la actividad de la glutamato descarboxilasa (GAD) en el cerebro de ratones.

larga lista se muestra en el cuadro 1. Es de hacerse notar que aunque algunas de ellas aumentan la concentración total de GABA en el cerebro, las convulsiones ocurren cuando la actividad de la GAD disminuye hasta un cierto límite, lo cual se ve con mayor claridad en la figura 3. Esta figura muestra el efecto del tratamiento con dos distintas sustancias que producen convulsiones, sobre la actividad de la GAD, en función del tiempo. Como puede observarse, es en el momento de la máxima inhibición de la GAD, en cada caso, cuando aparecen las convulsiones. Finalmente, en el cuadro 2 se indican los resultados de experimentos en los que se aislaron las terminales sinápticas del cerebro de ratones sacrificados durante convulsiones producidas por una sustancia que inhibe específicamente la actividad de la GAD, y se midió la actividad de esta enzima en dichas terminales aisladas (sinaptosomas).²⁵ Puede verse que la ac-

tividad de la GAD disminuyó más de 60 por ciento en los sinaptosomas completos, y casi 50 por ciento en la fracción soluble de ellos (sinaptoplasma).

Las evidencias experimentales señaladas en los párrafos anteriores apoyan la hipótesis presentada más arriba (fig. 2), en el sentido de que la regulación de la excitabilidad cerebral se ejerce mediante la actividad de la GAD en las terminales sinápticas inhibitoras (GABA-érgicas), la cual determina el mantenimiento de una concentración adecuada de GABA en el espacio intersináptico y por consiguiente una inhibición de algunos circuitos neuronales.^{26, 27} Cuando el funcionamiento de las sinapsis GABA-érgicas se impide por inhibición de la GAD o por bloqueo del receptor al GABA, ocurren convulsiones. Las posibles implicaciones de estos hallaz-

Cuadro 2 Cambios en la concentración de fosfato de piridoxal (FP) y la actividad de la glutamato descarboxilasa (GAD) en el cerebro de ratones tratados con piridoxal fosfato- γ -glutamil hidrazona

Fracción *	Porcentaje del valor testigo		
	GAD		
	FP	Sin FP	Con FP †
Sinaptosomas completos	77	38	74
Sinaptoplasma ‡	43	52	81
Mitocondrias intraterminales §	92	94	94

* Las fracciones subcelulares se obtuvieron por centrifugación en gradientes de densidad.²⁵

† El FP se agregó *in vitro* al medio de incubación para la determinación de la actividad de la GAD, en una concentración final de 1.7×10^{-4} M.

‡ Esta fracción está constituida por el material soluble de los sinaptosomas, obtenido después de romperlos con choque osmótico.

§ Mitocondrias contenidas en el interior de los sinaptosomas, obtenidas después de romperlos con choque osmótico.

gos experimentales en la epilepsia, así como el papel del fosfato de piridoxal (forma activa de la vitamina B₆) en la regulación de la excitabilidad cerebral, se tratarán a continuación.

Vitamina B₆, actividad de la GAD y epilepsia

En la figura 2 se indica el hecho de que el fosfato de piridoxal se sintetiza a partir del piridoxal y el ATP (adenosintrifosfato), en una reacción catalizada por la enzima piridoxal cinasa. En la misma figura se señala la participación del fosfato de piridoxal en la activación de la GAD; en tal activación el fosfato de piridoxal actúa como coenzima de la GAD, y este hecho parece ocurrir en las terminales sinápticas. Los siguientes hallazgos experimentales han permitido incluir al fosfato de piridoxal en la forma indicada en la figura 2: a) una inhibición *in vivo* de la actividad de la piridoxal cinasa resulta en una disminución correlativa en la concentración de fosfato de piridoxal cerebral;^{18, 28} b) una disminución en los niveles de fosfato de piridoxal en el cerebro se acompaña de una inhibición correlativa de la actividad de la GAD;^{18, 21, 28} c) tanto la piridoxal cinasa como el fosfato de piridoxal, la GAD y el GABA están concentrados en las terminales sinápticas;^{10, 11, 25, 29, 30} d) se ha observado que la correlación entre la disminución de fosfato de piridoxal y la inhibición de la GAD ocurre en las terminales sinápticas de animales sacrificados en convulsiones producidas por ciertas sustancias²⁵ (cuadro 2); e) tanto en el cerebro completo como en terminales sinápticas aisladas, la inhibición de la GAD *in vivo* producida

por sustancias que disminuyen la concentración cerebral de fosfato de piridoxal desaparece si se agrega fosfato de piridoxal *in vitro*, al medio de incubación usado para la determinación de la actividad de la GAD^{18, 25, 28} (cuadro 2).

Los hallazgos experimentales y las conclusiones mencionadas en las secciones anteriores permiten ofrecer una posible explicación para ciertos casos de epilepsia en humanos, que se han descrito desde hace algunos años. En 1954, varios casos de convulsiones de tipo epiléptico se observaron en niños de uno a tres meses de edad, que habían sido alimentados con una dieta deficiente en vitamina B₆.^{31, 32} Las convulsiones desaparecieron en cuanto se les suministró una cantidad adecuada de piridoxina. Varios casos similares a los anteriores aparecieron en la literatura en los años siguientes (véase la revisión de Tower).³³ La explicación de estos casos parece evidente a la luz de los resultados descritos en el presente trabajo. En efecto, parece razonable suponer que en condiciones de deficiencia de piridoxina no hay suficiente fosfato de piridoxal para mantener una actividad normal de la GAD en las terminales sinápticas inhibitoras. Como consecuencia, la cantidad de GABA sintetizado y liberado al espacio intersináptico disminuye, y algunos circuitos neuronales quedan sin control y descargan en forma no regulada, resultando como consecuencia un estado epiléptico.

Comentario general

Dos comentarios generales parecen pertinentes. Primero, los resultados revisados indican una clara relación entre la función bioquímica de una vitamina como

coenzima —en este caso la piridoxina y su forma activa, el fosfato de piridoxal— y su contrapartida fisiológica —en este caso la regulación de la excitabilidad—. Cuando disminuye la coenzima, la actividad de la GAD disminuye también, la regulación de la excitabilidad se altera y aparecen las convulsiones.

El segundo comentario se refiere a reconocer que las ideas aquí expresadas no constituyen de ninguna manera la única explicación bioquímica de la ocurrencia de convulsiones. Ciertamente muchos otros factores, como la participación de otros transmisores sinápticos, alteraciones en la concentración cerebral de algunos iones, cambios de pH, deficiencias en el aporte de energía al cerebro, modificaciones estructurales de ciertas proteínas, cambios estructurales o funcionales de los componentes de la membrana neuronal que resulten en una mayor permeabilidad al Na⁺ o de otros iones, probablemente están involucrados en los mecanismos que originan las convulsiones de tipo epiléptico. Sin embargo, consideramos como positivo el que se puedan plantear modelos como el aquí presentado, que permitan no sólo nuevos enfoques experimentales sino también el planteamiento de interesantes posibilidades para el diseño racional de drogas que puedan resultar útiles en el tratamiento de la epilepsia.

REFERENCIAS

1. Stone, I. H.: *Strychnine, picrotoxin, metrazol, and miscellaneous drugs*. En: *Pharmacology in Medicine*. 2a. ed. Drill, V. A. (Ed.). Nueva York, Mc Graw-Hill Co. 1958, p. 285.
2. Tews, J. K.; Carter, S. H.; Roa, P. D. y Stone, W. E.: *Free amino acids and related compounds in dog brain: post-mortem and*

anoxic changes, effects of ammonium chloride infusion, and levels during seizures induced by picrotoxin and by pentylenetetrazol. J. Neurochem. 10:641, 1963.

3. Roberts, E.: *An hypothesis suggesting that there is a defect in the GABA system in schizophrenia*. Neurosci. Res. Progr. Bull. 10: 468, 1972.
4. Pérez de la Mora, M. y Tapia, R.: *Anticonvulsant effect of 5-ethyl, 5-phenyl, 2-pyrrolidone and its possible relationship to γ -aminobutyric acid-dependent inhibitory mechanisms*. Biochem. Pharmacol. 22:2635, 1973.
5. Tapia, R.: *La comunicación interneuronal en sistema nervioso central*. En: *Los Perfiles de la Bioquímica en México*. Mora, J.; Estrada, S. y Martuscelli, J. (Eds.). U.N.A.M. México, 1974, p. 303.
6. Hill, R. G.; Simmonds, M. A. y Straughan, D. W.: *Antagonism of GABA by picrotoxin in the feline cerebral cortex*. Br. J. Pharmac. 44:807, 1972.
7. Curtis, D. R.; Duggan, A. W.; Felix, D.; Johnston, G. A. R. y McLennan, H.: *Antagonism between bicuculline and GABA in the cat brain*. Brain Research. 33:57, 1971.
8. Meldrum, B. S. y Horton, R. W.: *Convulsive effects of 4-deoxy-pyridoxine and of bicuculline in photosensitive baboons (Papio papio) and in rhesus monkeys (Macaca mulatta)*. Brain Research. 35:419, 1971.
9. Salganicoff, L. y De Robertis, E.: *Subcellular distribution of the enzymes of the glutamic acid, glutamine and γ -aminobutyric acid cycles in rat brain*. J. Neurochem. 12:287, 1965.
10. Fonnum, F.: *The distribution of glutamate decarboxylase and aspartate transaminase in subcellular fractions of rat and guinea pig brain*. Biochem. J. 106:401, 1968.
11. Fonnum, F. y Walberg, F.: *An estimation of the concentration of γ -aminobutyric acid and glutamate decarboxylase in the inhibitory Purkinje axon terminals in the cat*. Brain Research. 54:115, 1973.
12. Tapia, R.: *Biochemistry of GABA*. En: *Handbook of Psychopharmacology*. Iversen, L. L.; Iversen, S. D. y Snyder, S. H. (Eds.). Nueva York, Plenum Press. En prensa.
13. Utlley, J. D.: *The effect of antibrainic hydroxamic acid on rat behaviour and rat brain γ -aminobutyric acid, norepinephrine and 5-hydroxytryptamine concentrations*. J. Neurochem. 10:423, 1963.
14. Wood, J. D.; Watson, W. J. y Stacey, N. E.: *A comparative study of hyperbaric oxygen-induced and drug-induced convulsions with particular reference to γ -aminobutyric acid metabolism*. J. Neurochem. 13:361, 1966.
15. Wood, J. D. y Abrahams, D. E.: *The comparative effects of various hydrazide on γ -aminobutyric acid and its metabolism*. J. Neurochem. 18:1017, 1971.

16. Wood, J. D. y Peesker, S. J.: *A correlation between changes in GABA metabolism and isonicotinic acid hydrazide-induced seizures.* Brain Research. 45:489, 1972.
17. Tapia, R.; Pérez de la Mora, M. y Massieu, G.: *Modifications of brain glutamate decarboxylase activity by pyridoxal phosphate- γ -glutamyl hydrazone.* Biochem. Pharmacol. 16: 1211, 1967.
18. Tapia, R. y Awapara, J.: *Effects of various substituted hydrazones and hydrazines of pyridoxal-5'-phosphate on brain glutamate decarboxylase.* Biochem. Pharmacol. 18:145, 1969.
19. Alberici, M.; Rodríguez de Lores Arnaiz, G. y De Robertis, E.: *Glutamic acid decarboxylase inhibition and ultrastructural changes by the convulsant drug allylglycine.* Biochem. Pharmacol. 18:137, 1969.
20. Medina, M. A.: *The in vivo effects of hydrazines and vitamin B₆ on the metabolism of gamma-aminobutyric acid.* J. Pharmac. Exp. Ther. 140:133, 1963.
21. Minard, F. N.: *Relationships among pyridoxal phosphate, vitamin B₆ deficiency, and convulsions induced by 1,1-dimethyl-hydrazine.* J. Neurochem. 14:681, 1967.
22. Rodríguez de Lores Arnaiz, G.; Alberici de Canal, M. y De Robertis, E.: *Alteration of GABA system and Purkinje cells in rat cerebellum by the convulsant 3-mercaptopropionic acid.* J. Neurochem. 19:1379, 1972.
23. Tapia, R.; Pasantes, H.; Pérez de la Mora, M.; Ortega, B. G. y Massieu, G. H.: *Free amino acids and glutamate decarboxylase activity in brain of mice during drug-induced convulsions.* Biochem. Pharmacol. 16:483, 1967.
24. Tapia, R. y Sandoval, M. E.: *Possible participation of gamma-aminobutyric acid in the regulation of protein synthesis in brain, in vivo.* Brain Research. 69:255, 1974.
25. Pérez de la Mora, M.; Feria-Velasco, A. y Tapia, R.: *Pyridoxal phosphate and glutamate decarboxylase in subcellular particles of mouse brain and their relationship to convulsions.* J. Neurochem. 20:1575, 1973.
26. Tapia, R.: *The role of γ -aminobutyric acid metabolism in the regulation of cerebral excitability.* En: Neurohumoral Coding of Brain Function. Myers, R. D. y Drucker-Colin, R. R. (Eds.). Nueva York, Plenum Press. 1974, p. 3.
27. Tapia, R.; Sandoval, M. E. y Contreras, P.: *Evidence for a role of glutamate decarboxylase activity as a regulatory mechanism of cerebral excitability.* J. Neurochem. En prensa.
28. Tapia, R.; Pérez de la Mora, M. y Massieu, G. H.: *Correlative changes of pyridoxal kinase, pyridoxal-5'-phosphate and glutamate decarboxylase in brain, during drug-induced convulsions.* Ann. N. Y. Acad. Sci. 166:257, 1969.
29. Mangan, J. L. y Whittaker, V. P.: *The distribution of free amino acids in subcellular fractions of guinea pig brain.* Biochem. J. 98:128, 1966.
30. Loo, Y. H. y Whittaker, V. P.: *Pyridoxal kinase in brain and its inhibition by pyridoxilidene- β -phenylethylamine.* J. Neurochem. 14:997, 1967.
31. Molony, C. J. y Parmelee, A. H.: *Convulsions in young infants as a result of pyridoxine (vitamin B₆) deficiency.* J.A.M.A. 154:405, 1954.
32. Coursin, D. B.: *Convulsive seizures in infants with pyridoxine-deficient diet.* J.A.M.A. 154: 406, 1954.
33. Tower, D. B.: *Neurochemical mechanism.* En: Basic Mechanisms of the Epilepsies. Jasper, H. H.; Ward, A. A. y Pope, A. (Eds.). Boston, Little, Brown and Co. 1969, p. 611.

III BASES ELECTROFISIOLÓGICAS DE LA EPILEPSIA: SISTEMA LIMBICO Y ACTIVIDAD CONVULSIVA

AUGUSTO FERNÁNDEZ-GUARDIOLA *

Las estructuras neurales encargadas de la integración de los aspectos emocionales y de motivación de la conducta son el hipo-

* Académico numerario. Instituto Nacional de Neurología. Secretaría de Salubridad y Asistencia.

tálamo y las regiones que constituyen el cerebro visceral y que forman en conjunto el sistema límbico. Tanto la lesión como la estimulación de los conglomerados neuronales de este sistema, dan lugar a nota-

bles cambios en el comportamiento que están relacionados principalmente con la expresión motora y la experiencia subjetiva de la emoción. Estos fenómenos abarcan el miedo, la furia, las actitudes de defensa y ataque y la actividad sexual. También se ven alterados los procesos de formación y conservación de la memoria cuando tienen lugar desorganizaciones, permanentes o transitorias, en algunas porciones del sistema límbico, especialmente en los tubérculos mamilares o en el hipocampo.

Los diversos núcleos y áreas del sistema límbico, como sucede con todos los del encéfalo, a excepción del cerebelo y otras estructuras caudales del tallo cerebral, son susceptibles de sufrir las alteraciones fisiocósmicas que produzcan una activación paroxística, es decir, a transformarse en focos o áreas epileptógenas al modificarse su excitabilidad.

Dada la intervención de estas áreas en la vida vegetativa y la actividad mental con ella relacionada, no es de extrañar que sus descargas hipersincrónicas y de alta frecuencia den lugar a cambios en el comportamiento y en la conciencia, principalmente ligados a las esferas emocionales que se han mencionado. Estas descargas epilépticas originadas en el sistema límbico podrán permanecer restringidas topográficamente a dicho sistema o propagarse a otras regiones de la corteza cerebral y, a través de los sistemas de proyección difusa, a todo el encéfalo. En el primer caso se observarán alteraciones conductuales muy características, acompañadas de un peculiar estado de conciencia embotado y amnesia posterior. En el segundo caso asistiremos, tras una breve aura casi siempre emocional y vegetativa,

a una crisis generalizada tónico-clónica o de gran mal.

Precisamente el problema más interesante de las relaciones entre el sistema límbico y la epilepsia estriba en las crisis regionales, focalizadas y sin propagación a la corteza motora. Estas crisis suelen, en un comienzo, pasar inadvertidas o atribuirse a trastornos de orden puramente psíquico. Su carácter repetitivo, su aparición súbita y la rápida desaparición seguida de amnesia, son características que suelen alertar al clínico y orientarlo hacia una exploración neurológica cuidadosa con registro electroencefalográfico y llegar así al diagnóstico de epilepsia del lóbulo temporal.

Antes de que se conociera la integración límbica de estos fenómenos se denominaba a este cuadro clínico "epilepsia psicomotora". Si nos atenemos al Diccionario de Epilepsia, recientemente editado por el profesor H. Gastaut, bajo los auspicios de la Organización Mundial de la Salud (1973), el término de epilepsia psicomotora... es un sinónimo incorrecto de *epilepsia del lóbulo temporal* que desgraciadamente utilizan aún los pocos autores que consideran las crisis epilépticas automáticas como "psicomotoras" y que erróneamente suponen que tales crisis resultan siempre de una descarga epiléptica del lóbulo temporal.¹

La epilepsia del lóbulo temporal tiene, además, dos aspectos peculiares. El primero es un difícil diagnóstico; el segundo su rebeldía o resistencia a los tratamientos anticonvulsivantes habituales.

La dificultad diagnóstica está ligada sobre todo al hecho ya mencionado de que no siempre se acompaña de crisis convulsivas generalizadas, pudiendo éstas faltar

por completo en los cuadros iniciales, y a que los trastornos psíquicos y conductuales son de tal manera heterogéneos que es difícil establecer un cuadro clínico que sea en definitiva normativo para un diagnóstico. Aunque suelen coincidir intensificación de los fenómenos de *déjà-vu*, alucinaciones auditivas y prolongados automatismos con alteraciones acentuadas de conciencia, muchos de estos síntomas pueden acompañar también a los cuadros esquizofrénicos, sobre todo iniciales. No es infrecuente que los pacientes con epilepsia del lóbulo temporal sean referidos primero a un psiquiatra, ante la sintomatología psíquica del cuadro. Uno de los pacientes a los cuales nos vamos a referir a continuación, había sufrido un traumatismo por arma de fuego que afectó en forma importante todo un lóbulo temporal, sin dejar huella externa en cara o cráneo, pues una posta de escopeta penetró por el ángulo interno del ojo, y recorrió longitudinalmente el lóbulo temporal izquierdo. Este paciente desarrolló un cuadro con alucinaciones y algunas ideas delirantes, crisis de misticismo y trastornos de conducta, que fueron calificados como esquizofrenia paranoide, fue internado en el manicomio general por más de seis años. El enfermo refería con claridad que el inicio de su padecimiento se debía a un disparo de escopeta, pero por la aludida falta de señales externas, esto fue considerado como parte de su cuadro paranoide y delirante. Cuando se realizaron estudios radiológicos y electroencefalográficos en este paciente, se pudo establecer con certidumbre la existencia de una lesión del lóbulo temporal y efectuar un tratamiento médico y quirúrgico que modificó notablemente la sintomatología.

El diagnóstico se dificulta también por ser ésta una epilepsia focal; sucede que a menudo los signos electroencefalográficos son muy escasos o faltan por completo en el EEG intercrito de rutina. De hecho, esta dificultad en encontrar alteraciones electroencefalográficas en la epilepsia del lóbulo temporal ha dado lugar al desarrollo de los métodos de activación, como son la asociación foto-metrazólica y la inducción del sueño; esta última, especialmente eficaz, partió de la observación hecha por Fuster, Gibbs y Gibbs² de la existencia de ondas agudas en la región temporal anterior, cuando estos pacientes entraban en las primeras etapas del sueño.

Por lo que se acaba de señalar es evidente que un corto y rutinario electroencefalograma normal no es, en modo alguno, excluyente de epilepsia del lóbulo temporal y que es necesario realizar estudios seriados con procedimientos de activación de las descargas paroxísticas.

La segunda característica señalada, relativa a la rebeldía o resistencia de la epilepsia del lóbulo temporal a la medicación anticonvulsivante, ha dado lugar a una serie de intentos neuroquirúrgicos para aliviar este mal. La neurocirugía de la epilepsia del lóbulo temporal se ha realizado con éxito y su indicación en casos con graves trastornos de conducta parece hoy fuera de duda.

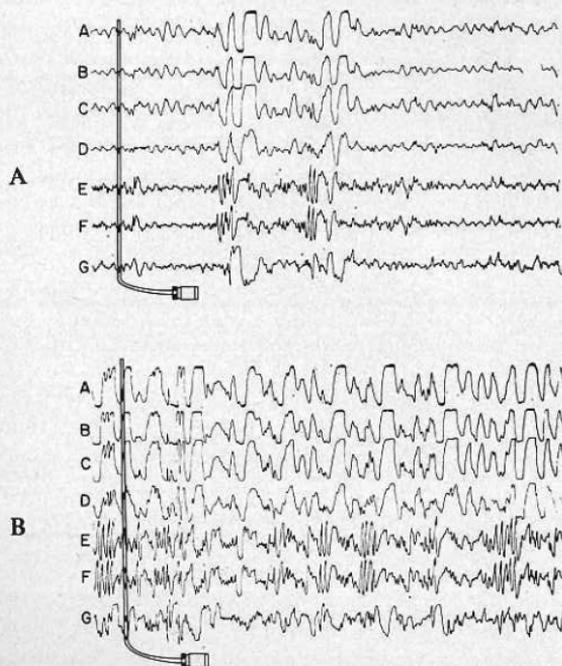
La amígdala del lóbulo temporal es una de las estructuras del sistema límbico que, junto con el hipocampo, da lugar a la mayor parte de la sintomatología de las crisis de automatismo epiléptico. El registro con electrodos de profundidad implantados a permanencia revela que la máxima amplitud y rapidez de las "puntas" o "espigas" (potenciales eléctricos

de alto voltaje y gran rapidez) ocurren precisamente en la amígdala. Es también en este complejo nuclear donde la actividad eléctrica cambia bruscamente hacia la hipersincronía paroxística cuando el paciente sufre una crisis de automatismo psicomotor (fig. 1).

La lesión bilateral de la amígdala produce, en los mamíferos superiores, el llamado síndrome de Kluver y Bucy;³ ciertos animales que se muestran particularmente feroces cuando están en cautiverio se tornan plácidos y dóciles como resultado de la lesión bilateral del lóbulo temporal que abarque ambas amígdalas. En un experimento en cierto modo opues-

to, Gastaut y col.⁴ demostraron que la activación de estos núcleos en el gato, ya fuera por la estimulación eléctrica o por la aplicación de sustancias irritativas como la albúmina, produce estados conductuales semejantes a las crisis automáticas del lóbulo temporal, ocasionalmente acompañadas de agresión o conducta de ataque dirigido.

Los electrodos multipolares de profundidad se han utilizado también en el hombre para localizar áreas paroxísticas alejadas de la corteza cerebral. Estos registros son más exactos que el electroencefalograma percutáneo e incluso proporcionan muchos más datos que los electrodos naso-



1. Registro en la profundidad del lóbulo temporal. Hemisferio derecho. Paciente con una historia de crisis de automatismos y convulsiones generalizadas de 11 años de evolución. Los dibujos a la izquierda representan el electrodo multipolar con sus ocho derivaciones, E y F se encuentran en la porción basal de la amígdala; G en las capas profundas de la corteza cerebral temporal; A y B en la circunvolución del hipocampo. A, en la parte superior, es la actividad de reposo. B, en la inferior, muestra el resultado de la estimulación de la amígdala (15 volts, 50 Hz. durante un segundo). La intensificación del número de polispigas en la amígdala se acompañó de desviación y fijación de la mirada, enrojecimiento de la cara, salivación y erección. También se provocaron recuerdos de la infancia del paciente, con intenso carácter afectivo.

faríngeos o esfenoidales. Por otra parte, los electrodos implantados permiten la estimulación, con corrientes débiles y bien controladas, de las estructuras subcorticales del sistema límbico y reproducir así los síntomas paroxísticos de los pacientes, lo que tiene un gran valor diagnóstico.

A través de numerosas experiencias de estimulación y registro del lóbulo temporal en pacientes epilépticos hemos logrado reproducir automatismos y otros componentes de sus crisis peculiares. Al realizar estas maniobras inocuas y de naturaleza completamente reversible, hemos verificado los resultados de otros autores (Mark y Ervin⁵ y Delgado y col.⁶), tales como provocación de memorias o recuerdos con un carácter vívido y alucinatorio, verbalizaciones, contracciones de la musculatura facial ipsilateral, actos motores automáticos, conducta sexual y, en raras ocasiones, comportamiento violento.

Nuestra experiencia se basa en 18 pacientes a quienes se colocaron electrodos de ocho y seis puntas en el lóbulo temporal y tres pacientes con electrodos implantados en la circunvolución del cíngulo. En el lóbulo temporal los electrodos se dirigieron estereotáxicamente, con un ángulo de 45 grados con respecto al plano sagital y se colocaron abarcando desde la corteza hasta la circunvolución del hipocampo, pasando a través de la amígdala (puntas intermedias de registro) y de las zonas periamigdalinas. Estos pacientes fueron operados en el Instituto Nacional de Neurología, S. S. A. (México). Todos los casos presentaban síntomas graves y acentuados de epilepsia del lóbulo temporal, que no habían cedido ante la terapéutica médica clásica. También la mayo-

Cuadro 1 Estimulación eléctrica del sistema límbico (lóbulo temporal del hombre)

No. de pacientes	No. de estimulaciones	Crisis clínicas y electrográficas	Ausencias clínicas	Reminiscencias sexuales, afectivas, personales; miedos; distimias	Reminiscencias categóricas; conocimientos aprendidos	Reacciones violentas
18	864	320 37.03%	217 25.11%	240 27.77%	12 1.38%	75 8.68%

ría mostraba trastornos de conducta que ameritaron su internamiento.

Estos pacientes tuvieron los electrodos implantados durante tiempos que variaron entre algunos días y tres meses, con un tiempo promedio de 4 semanas. Se realizaron registros y estimulaciones dos veces por semana, anotándose los resultados proporcionados por cada una de las ocho puntas activas en el lado derecho y en el izquierdo. En total nuestra experiencia fue de unas 800 estimulaciones y registros en los 18 pacientes.

El cuadro 1 muestra un resumen simplificado de los resultados de la estimulación del lóbulo temporal. Como puede observarse, el porcentaje más alto de respuestas fue de las de tipo paroxístico, incluyendo ausencias epilépticas, como era de esperarse dada la naturaleza del padecimiento. Sin embargo, al estimular el lóbulo temporal contralateral al sitio lesionado, es decir el llamado foco primario o de más alto voltaje y frecuencia, se producían una gran variedad de fenómenos psíquicos, recuerdos y reminiscencias alucinatorias. En varios pacientes, un lóbulo temporal proporcionaba exclusivamente respuestas de tipo paroxístico con pérdida de conciencia, estando a cargo del lóbulo temporal del otro hemisferio los fenómenos de automatismos y reactivación de memoria.

El análisis de dos recuerdos y memorias alucinatorias reveló el interesante hecho de que éstas eran de tipo afectivo, con un carácter personal, siempre relacionadas con situaciones en las que el propio sujeto participó en el pasado y que provocaron emociones intensas, especialmente miedo, pena e ira, cuando se estimulaban las derivaciones más superficiales originaban

con frecuencia respuestas de tipo eufórico y recuerdos agradables. Es importante señalar que las respuestas verbales de memorias categóricas, relacionadas con conceptos abstractos aprendidos fueron extremadamente raras.

Las reacciones de violencia se definieron por una conducta de ataque y agresión, ya fuera contra las personas y objetos del medio ambiente o como un fenómeno de autoagresión. En realidad este tipo de conducta se observó en muy pocas ocasiones (solamente en 8.68 por ciento de las estimulaciones). Conviene señalar también que todos los pacientes que exhibían violencia al ser estimulados, habían mostrado tal comportamiento con anterioridad, en forma de brotes de conducta agonística dirigida.

En relación con la posible integración límbica de la conducta de violencia, es importante señalar el paralelismo entre la baja incidencia de respuestas de agresión y la escasez de respuestas de tipo conocimiento impersonal, abstracto y aprendido. No deja de ser muy tentador el relacionar ambos procesos con la conducta social adquirida por aprendizaje y, si tal es el caso, separarlos de las funciones de carácter instintivo del sistema límbico.

Con esto queremos decir que nuestros resultados no ofrecen pruebas para afirmar que el comportamiento de violencia o agonístico sea una función innata o instintiva que se integra en el sistema límbico. Estos resultados concuerdan, por otra parte, con los de Nashold y col.⁷ quienes no encontraron respuestas conductuales de violencia al estimular el lóbulo temporal de cinco pacientes epilépticos. Es necesario aclarar que estamos considerando como violencia solamente

los actos de agresión intraespecífica sin justificación o estímulo adecuado. Es diferente el caso para la conducta de defensa o huida y la agresión predatoria, que sí son funciones del sistema límbico. Por otra parte, podría argüirse que nuestras estimulaciones y las de otros autores, no abarcan ni con mucho toda la extensión del sistema y que pueden existir áreas no alcanzadas por estas estimulaciones y en las cuales se integre la conducta de violencia. Tal argumento puede refutarse basándose en diversos hechos:

- a) El sistema límbico constituye un circuito de estructuras interconectadas por múltiples vías; tanto la amígdala como el hipocampo tienen relaciones con los demás componentes del sistema. Por lo tanto su estimulación debe activar y precipitar la función límbica en su totalidad.
- b) La prolongada latencia de las respuestas y la duración exigida de los estímulos (hasta varios segundos), hablan en contra de una respuesta local.
- c) Todas las funciones del sistema límbico, como conducta sexual, cambios afectivos, fijación de memorias, control motor de la expresión facial, y otras, fueron provocadas por la estimulación.

Cierto es, además, que la violencia inaceptable en términos de conducta humana es, en muchas ocasiones, un proceso intelectual frío (en el sentido de que el que la ejerce puede no estar sujeto a un proceso emocional intenso) y no por eso dejar de ser tremendamente destructiva.

en el sentido agonístico intraespecífico. Tal sucede con los asesinatos en masa y a distancia de población civil en las modernas guerras aéreas, en las cuales los agresores pueden estar tan lejos del efecto que producen que no experimentan emoción alguna. Estas actividades exigen un esfuerzo técnico e intelectual que sugiere una participación de las estructuras cerebrales donde se integra el aprendizaje de lo abstracto y que son, hasta donde sabemos en la actualidad, las zonas más rostrales del neocórtex que forman los lóbulos frontales.

En nuestros pacientes, como se ha señalado, se encontró un porcentaje bajo de respuestas de violencia dirigida. Este número de respuestas agonísticas no deja de ser significativo si pensamos en lo reducido de la muestra y en la repercusión que puede tener tal comportamiento durante un automatismo del lóbulo temporal de larga duración. Pero, una vez más, no podemos hablar aquí de una función instintiva. Por un lado se trata del efecto de una lesión orgánica y permanente del cerebro; por el otro, las estimulaciones no producían una respuesta nueva, solamente reactivaban componentes de la conducta que ya se habían instalado progresivamente en el cuadro clínico del paciente.

La epilepsia del lóbulo temporal nos ha enseñado mucho acerca de las funciones del sistema límbico, reafirmando el concepto de integración de las emociones en esta porción del cerebro filogenéticamente antigua. Las bases fisiológicas de las alucinaciones y de la memoria para lo acontecido directamente al ser, han comenzado también a dilucidarse, sobre todo a través de las estimulaciones del

complejo amigdalino. Es indudable que el estudio psicofisiológico, orientado hacia funciones psíquicas específicas en los pacientes de este tipo de epilepsia, arrojará en el futuro un caudal aún mayor de datos sobre las funciones y la fisiopatología del sistema límbico.

REFERENCIAS

1. Gastaut, H.: *Diccionario de Epilepsia*. Ginebra, Organización Mundial de la Salud. 1973, p. 59.
2. Fuster, B.; Gibbs, E. L. y Gibbs, F. A.: *Penitobal sleep and localization of seizure dis-*

charges of psychomotor type. Dis. Nerv. System. 9:190, 1948.

3. Klüver, H. y Bucy, P. C.: "Psychic blindness" and other symptoms following bilateral temporal lobectomy in rhesus monkeys. *Am. J. Physiol.* 119:352, 1937.
4. Gastaut, H.; Naquet, R.; Vigoroux, R. y Goriol, L.: *Provocation de comportements émotionnels divers par stimulation rhinencéphalique chez le chat avec électrodes demeure*. *Rev. Neurol.* 86:319, 1952.
5. Mark, V. y Ervin, F.: *Violence and the brain*. Nueva York, Harper & Row. 1970, p. 170.
6. Delgado, J. M.: *Physical Control of the Mind; Towards a Psychocivilized Society*. Nueva York, Harper & Row. 1969, p. 280.
7. Nashold, B. S.; Flanigin, H.; Wilson, W. P. y Stewart, B.: *Stereotactic evaluation of bitemporal epilepsy with electrodes and lesions*. *Conf. Neurol.* 35:94, 1973.

IV CONCLUSIONES

GUILLERMO MASSIEU

Dos comentarios generales parecen pertinentes. Primero, los resultados revisados indican una clara relación entre la función bioquímica de una vitamina como coenzima —en este caso la piridoxina y su forma activa, el fosfato de piridoxal— y su contrapartida fisiológica —en este caso la regulación de la excitabilidad—. Cuando disminuye la coenzima, la actividad de la GAD disminuye también, la regulación de la excitabilidad se altera y aparecen las convulsiones.

Esto no constituye de ninguna manera la única explicación bioquímica de la ocurrencia de convulsiones. Ciertamente hay muchos otros factores involucrados, como la participación de otros transmisores sinápticos, alteraciones en la concentración cerebral de algunos iones, cambios de pH, deficiencias en el aporte de ener-

gía al cerebro, modificaciones estructurales de ciertas proteínas, cambios estructurales o funcionales de los componentes de la membrana neuronal y otros. Sin embargo, es muy positivo que existan modelos como el aquí presentado, que permiten no sólo nuevos enfoques experimentales, sino también el planteamiento de interesantes posibilidades para el diseño racional de drogas que puedan resultar útiles en el tratamiento de la epilepsia.

La comparación de la actividad eléctrica de la corteza cerebral con centros subcorticales principalmente de carácter inhibitorio como el núcleo rojo y el cerebelo, ha permitido explorar mecanismos que son de importancia en la propagación y en la inhibición de la actividad convulsiva.

Este hecho, que ha sido comprobado mediante experimentos de lesión y de estimulación, tiene implicaciones básicas que pudieran

llevar a una terapéutica más adecuada de las epilepsias. Es decir, la estimulación crónica de estructuras inhibitorias (como ya se está haciendo al estimular el cerebro de pacientes de epilepsia del lóbulo temporal) permite la disminución de la frecuencia y de la intensidad de los ataques convulsivos.

Así mismo, la correlación neuroquímica y electrofisiológica permitirá en el futuro el diseño de nuevos fármacos anticonvulsivantes que actúen no de manera empírica, sino con bases fisiológicas y bioquímicas al conocerse la naturaleza de los neurotransmisores involucrados en el proceso.

BACTERIOLOGIA DEL AGUA POTABLE

"En la actualidad los observadores dedicados á este género de análisis y en general todos los bacteriologistas, recomiendan casi exclusivamente los métodos de cultivos.

"Estos métodos son laboriosos y dilatados, sobre todo para el análisis cualitativo. Para el cuantitativo se requieren por lo menos tres días con los medios nutritivos sólidos y tres semanas con los líquidos; además del tiempo necesario, otros tres días para calcular aproximadamente el grado de dilución que se debe hacer sufrir al agua; pero sus resultados, sin tener una precisión matemática, tienen la exactitud suficiente para compensar esos inconvenientes.

"Las aguas potables de la capital son las de Chapultepec, Guadalupe Hidalgo y los Leones, enumeradas en el orden en que pienso estudiarlas. . .

Podemos afirmar que el agua del estanque de las bombas de Chapultepec, contiene 4,300 bacterias por centímetro cúbico. . . solamente diré que he encontrado y aislado un bacilo de extremidades redondeadas, móvil, que liquida la gelatina haciéndola fluorescente y dándole un tinte verde, y el cual comunica á sus cultivos en caldo un olor fecaloide extremadamente repugnante. Parece ser el *bacilo fluorescente liquefaciente* de Flügge. (Prieto, Ismael: *Estudio bacteriológico de las aguas potables de la Ciudad de México*. GAC. MÉD. MÉX. 31:81, 1894.)