

LABERINTOTOXIA ESTREPTOMICINICA. CONTRIBUCION A SU ESTUDIO EXPERIMENTAL *

Dr. G. CAPELLÁ BUJOSA

I.-INTRODUCCION

EL empleo de los antibióticos ha alcanzado una gran difusión. Sus propiedades antibacterianas han revolucionado la terapéutica y el pronóstico de muchas enfermedades. La estreptomycinina ha tenido su parte en esta revolución terapéutica y sus propiedades han hecho que su empleo estuviese muy difundido. Este fármaco se viene empleando con gran éxito en el tratamiento de las infecciones por gérmenes Gram negativos y por las ocasionadas por el bacilo de Koch. Si hoy día su papel en la terapéutica de la tuberculosis ha pasado a un segundo término por la aparición de la hidracida del ácido isonicotínico, no por esto se ha abandonado totalmente su uso en el tratamiento de esta infección. Asociada a las otras drogas antituberculosas (pas, tebeuno y la mencionada hidracida), continúa teniendo un sitio de preferencia entre los medicamentos que están a nuestra disposición para tratar las infecciones tuberculosas. Además, ocupa un buen lugar, único o destaca-

do, según las ocasiones, en el tratamiento de multitud de infecciones, dada la amplitud de su espectro antibacteriano. Así, pues, este medicamento, de acuerdo con sus grandes propiedades bacteriostáticas y bactericidas, se emplea para combatir infecciones producidas, tanto por virus como por bacterias, tales como meningitis causadas por gérmenes Gram negativos, meningitis y neumonías por *H. influenzae*, disenteria por *Shigella*, endocarditis por viridans, infecciones por estafilococo dorado, infecciones urinarias por *Escherichia coli*, *B. proteus* y aerogenes, tularemia, peste, tos ferina, etc.

Como contrapartida a su extenso y maravilloso poder, se han ido dibujando algunos inconvenientes en su utilización, entre los que merecen destacarse, por un lado, la resistencia de ciertas cepas a su propiedad bacteriostática y, por otro, su toxicidad para el organismo infectado. De esta toxicidad de la droga y muy especialmente de la acción que tiene sobre el VIII par craneal, es de las que vamos a ocuparnos en este trabajo.

* Trabajo galardonado por la Real Academia de Medicina de Barcelona con el Premio Anales de Medicina y Cirugía.

• Nuestra labor se ha dirigido a investigar la acción de la estreptomina, tanto en el aparato vestibular periférico (conductos semicirculares, mácula, sáculo), como en el central (núcleos bulbares), a los efectos de poder discriminar si las alteraciones vestibulares a que da lugar su administración tienen su asiento en la parte periférica o en la parte central de este aparato. A estos efectos hemos efectuado un examen histológico de los laberintos y centros vestibulares centrales de cobayos sometidos previamente a intoxicación por estreptomina.

En la preparación de este trabajo hemos tenido que vencer numerosos obstáculos. Hemos tenido que luchar en muchas ocasiones con la falta del producto en el mercado, en el momento de efectuarlo lo que nos ha dificultado su adquisición, ya de por sí onerosa. Pero no hemos reparado en estos inconvenientes para lograr la obtención de la cantidad de medicamento necesaria para proseguir y alcanzar la intoxicación de nuestros animales. Además, el estudio histológico del aparato vestibular es difícil, tanto en su parte periférica como en la central. La obtención de buenos cortes de temporales no es labor fácil. Hay notable disparidad entre las finas terminaciones nerviosas del VIII par y la delicadeza de su epitelio sensorial por una parte, y el fuerte estuche óseo que las engloba, por otra, y debe lograrse

una perfecta armonía entre la acción de los líquidos decalcificantes y los fijadores que han de debilitar este armazón óseo y evitar las alteraciones de las delicadas células sensoriales, que permitan obtener buenas preparaciones histológicas.

Pero se han ido venciendo todas las dificultades y ahora podemos tener la satisfacción de presentar a la consideración de esa Real Academia de Medicina, este trabajo de investigación experimental, primero de este tipo que se ha realizado en nuestra patria, pues, si bien han aparecido trabajos españoles sobre la acción tóxica de la estreptomina, no se ha hecho ninguno con aporte experimental histopatológico.

Laberintotoxia estreptomínica experimental

Se han publicado diversos trabajos de investigación destinados a localizar el punto de ataque de la estreptomina en el aparato vestibular. En gracia a la claridad de exposición pueden agruparse en: 1. Experiencias destinadas a demostrar la acción modificadora del medicamento sobre la fisiología del laberinto, sin estudio histopatológico de centros vestibulares ni terminaciones sensoriales del aparato vestibular, y 2. Experiencias con estudio histopatológico del aparato vestibular para demostrar la clase de alteraciones a que da lugar la administración de estreptomina.

1. *Experiencias animales con estudio histológico.* — MUSHET y MARTLAND examinaron perros y monos intoxicados por estreptomina, pero limitaron su estudio histológico al hígado, en donde encontraron focos de necrosis, y al riñón, en donde hallaron los túbulos rellenos por moldes hialinos y grandes células epiteliales.

STEWNSON, ALWORD y CORRELL examinan cinco pacientes con sordeza por estreptomina y tres perros sometidos a intoxicación experimental por esta sustancia y encuentran lesiones en el tubérculo acústico ventral y en el núcleo vestibular inferior.

FOWLER no encontró ninguna lesión en sistema nervioso central ni en terminaciones periféricas en cuatro perros ni en cuatro casos humanos intoxicados por estreptomina.

RUEDI, FURRER, ESHER y LUTHY no encontraron ninguna lesión en aparato vestibular periférico de cobayos sometidos a intoxicación; hallaron, en cambio, lesiones en el tronco nervioso central en el que describieron: licuación del plasma y a veces picnosis en células ganglionares; reacción glial en el núcleo triangular y reducción del número de células en el núcleo triangular y en el núcleo BETCHERW. Más tarde, y después de los trabajos de CAUSSÉ, estos autores han revisado sus preparaciones y han encontrado las mismas lesiones que este autor encontró en el aparato

vestibular periférico, y que se describirán más adelante.

WINSON, LEWEY, PARENTEAU, MARDEN y CRAMER, que han intoxicado gatos, han demostrado lesiones histológicas (picnosis y retracción) de las células de Purkinje, de las que constituyen el flóculo y nódulo del cerebelo, el núcleo fastigio de casi todos los casos y, en menor número, de los núcleos vestibulares de Deiters y del núcleo triangularis del bulbo. También han encontrado lesiones en el núcleo ventral coclear, en el tubérculo acústico, en el cuerpo trapezoides, en la sustancia reticular y en las astas anteriores de las células de la médula cervical. El estudio lo han efectuado con tres medios de investigación: tinción intravital con azul tripán y examen macroscópico y microscópico del sistema nervioso central; examen histológico de cortes del sistema nervioso central, teñidos con cresil violeta y ácido fosfotungstico; y destrucción quirúrgica de los núcleos vestibulares del tronco cerebral. El primero de estos métodos se funda en el hecho de que, cuando hay una lesión necrótica o inflamatoria del sistema nervioso central, falla la barrera hematoencefálica, ya resida en el endotelio de los capilares, o en las propias células nerviosas, y aquellas zonas alteradas se impregnan por el colorante. Examinadas microscópicamente, aquellos autores pudieron observar las granulaciones de azul

tripán en el citoplasma y en el núcleo de las células. Con el segundo método pudieron observar picnosis de los núcleos de las células hasta llegar a la retracción completa. En algunas áreas pudieron observar las arborizaciones dendríticas de las células de Purkinje recubiertas de gránulos. El tercer método se basa en el hecho de que si a un animal se le destruye el sistema vestibular de un lado, por ejemplo el derecho, tendrá un nistagmus hacia el lado opuesto, en nuestro caso, el izquierdo. Si la destrucción se lleva a cabo en un animal con el aparato vestibular lesionado por la estreptomycin, no se producirá ningún nistagmus con este procedimiento. WINSTON y colaboradores demostraron que la estreptomycin había destruido los núcleos vestibulares centrales en un 50 por 100 de los animales con que experimentaban. Estos autores demostraron, pues, que la lesión producida por la estreptomycin en el sistema vestibular, es de asiento central.

La misma localización han demostrado los trabajos de FLOBERG, HAMBERGER e HYDEN, los cuales han determinado en cobayos, la cantidad de ácido ribonucleico y proteínas de las células del ganglio vestibular y del núcleo de Deiters, mediante un método ideado por Casperon que se basa en el estudio del espectro de absorción de la luz ultravioleta. En los cobayos intoxicados por estreptomycin, han en-

contrado que no se elaboran los ácidos ribonucleicos y que la falta es más notable en las células ganglionares que en las del núcleo Deiters. La absorción de rayos ultravioleta es muy pobre en las células ganglionares de estos animales; solamente el nucleolo absorbe intensamente; en cambio, en las células normales la absorción de aquella luz es muy intensa, tanto por el citoplasma como por el núcleo.

También señalan la localización central de la lesión por estreptomycin, los trabajos de CHRISTENSEN, HERTZ, RISKAER y VRA-JENSEN. En todos los animales intoxicados por estos investigadores se han encontrado lesiones en el bulbo, en las células de Purkinje y en las células motrices del cerebro. Todas ellas estaban engrosadas e hinchadas. No han encontrado lesiones en aparato periférico. Empleando dosis que pueden producir sordera, han investigado el efecto microfónico de la cóclea y han podido comprobar que la estreptomycin no altera el efecto microfónico. Según estos autores, este medicamento tiene, pues, una acción central y no periférica.

A conclusiones contrarias llegan CAUSSÉ y BERG. El primero trabajando en ratones y el segundo en gatos, llegan a comprobar, investigando por separado y, aproximadamente en las mismas fechas, que la estreptomycin tiene su acción en el aparato vestibular periférico.

CAUSSÉ no ha encontrado ninguna lesión en nervio ni en el cerebro; solamente una ligera reacción glial del hemisferio cerebral. En cambio, en el epitelio sensorial vestibular, ha observado que el citoplasma de las células de las crestas y de las máculas de los ratones intoxicados, se han coloreado irregularmente por la eosina, y aparece turbio. La forma de las células es cilíndrica en vez de piriforme y el núcleo se ha coloreado con menos intensidad; las células basales son más numerosas y más voluminosas. El epitelio, carácter fundamental, está desprovisto de cilios. La lesión sería más precoz en las crestas que en las máculas. En la cóclea hay desaparición de células ciliadas internas y externas y, en el ganglio espiral hay rarefacción de las células nerviosas y gliosis.

BERG ha encontrado lesiones en el epitelio vestibular sensorial, tanto más intensas cuanto mayor era la cantidad de estreptomycin administrada. Los cilios desaparecen y las células ciliares están retraídas y aparecen como redondeadas, de lo que resulta un aplanamiento de la totalidad del epitelio. El epitelio del sáculo es más resistente que el del utrículo. Según la opinión de BERG, en el ganglio vestibular no pueden evaluarse debidamente las lesiones, porque en los animales normales hay variaciones notorias. No se encuentra ninguna lesión en núcleos bulbares. En uno de los gatos que tuvo notable pér-

da auditiva, encontró alteraciones degenerativas en las células de la primera y segunda vueltas del caracol.

Si resumimos las lesiones anatómicas encontradas, podemos hacer las siguientes agrupaciones:

1.º Necrosis licuefactantes del núcleo ventricular, del núcleo vestibular inferior (STEVENSON y colaboradores) y de las células ganglionares (RUEDI y colaboradores).

2.º Gliosis del núcleo ventricular (RUEDI, FURRER, LUTHY) del ganglio espiral (CAUSSÉ).

3.º Pcnosis de las células ganglionares (RUEDI, etc.), de las células de Purkinje, del núcleo dentado, del núcleo de Deiters (WINTON, LEWEY, etc.).

4.º Descamación ciliar en células de cresta ampular, mácula y utrículo (CAUSSÉ, BERG).

5.º Tigrolisis, atrofia y reacción glial proliferativa de los núcleos vestibulares centrales (CHRISTENSEN, RISKAER, SECONDI).

SECONDI ha intoxicado cobayos y examinando el sistema nervioso central y terminaciones vestibulares periféricas, ha encontrado que las lesiones más intensas residen en el núcleo bulbar y en sentido decreciente en vermis del cerebelo, ganglios cocleares y vestibulares y conductos semicirculares. Tanto el ganglio como la cóclea se lesionan solamente con grandes dosis.

No encuentra lesión en conducto coclear ni en corteza cerebral. Las lesiones aumentan incluso después de acabar el tratamiento, pero después de un tiempo límite no se observa este aumento.

GRAF ha examinado temporales de meningíticos tuberculosos tratados con estreptomycin y, aparte haber hallado lesiones del tronco del nervio que estarían relacionadas con el proceso meníngeo, ha encontrado alteraciones degenerativas en las células sensoriales de las crestas y las máculas que corresponderían a las producidas en cobayos intoxicados con la droga. Incluso en tres pacientes que tenían sordera encontró alteración de la célula ciliada de la primera y segunda vueltas del caracol.

HAWKINS con la colaboración de LURIE ha proseguido sus investigaciones en gatos. Por el estudio del efecto microfónico ha encontrado que la estreptomycin actúa sobre la cóclea. Mediante las pruebas vestibulares rotatorias y de observación del nistagmus estudiado, ha buscado las diferencias del potencial córneo retiniano mediante la aplicación de pequeños electrodos metálicos y ha encontrado signos de lesión vestibular. Ha hecho un estudio histológico de crestas y cócleas. En las crestas ha encontrado degeneración de las células ciliadas, atrofia de las células basales y en las máculas una retracción del epitelio y menor degeneración de las células ciliadas

que todavía conservan sus cilios. En la cóclea ha hallado degeneración de las células ciliadas internas y externas y a veces completa absorción del órgano de Cortí. En ocasiones las únicas células ciliadas afectadas son las internas y, en cambio, las externas están respetadas, particularidad que distinguiría la lesión coclear por estreptomycin de las producidas por trauma acústico y sordera congénita, en cuyas afecciones las células ciliadas externas son las que presentan signos evidentes de degeneración. El examen del sistema nervioso central de estos animales, que fué efectuado por SMITH, no reveló ninguna lesión.

HAWKINS y MUSHETT intoxicaron conejos, perros y gatos y pudieron observar que estos animales presentaban trastornos vestibulares parecidos a los del hombre. Registraron gráficamente el nistagmus postrotatorio y pudieron observar cómo iba disminuyendo a medida que aumentaba la intoxicación hasta llegar a desaparecer toda respuesta vestibular. Los estudios electrofisiológicos que llevaron a cabo les pusieron de manifiesto que la respuesta electrofisiológica de la cóclea y del nervio disminuía con la intoxicación. En las precoces investigaciones de estos autores no efectuaron ningún estudio histológico, pero apuntaron la sugerencia de que la estreptomycin no solamente pudiese actuar sobre aparato vestibular periférico,

sino también en núcleos vestibulares y centros cerebelosos y cerebrales.

2. *Experiencias animales sin investigación histológica.* — MARCO CLEMENTE intoxicó ratones con estreptomycin y los sometió a la prueba galvánica. Los animales presentaban una respuesta normal. Con todas las reservas con que debe acogerse el resultado del examen a la corriente galvánica, puede admitirse que estos resultados eran debidos a que el laberinto periférico estaba afectado.

VANDERHAEGHE ha intoxicado conejos y ha medido el nistagmus postrotatorio pudiendo observar que su duración disminuye con la intensidad de intoxicación. Una vez ha alcanzado un valor mínimo se mantiene aún después de detenida la administración del medicamento. Examinando los mismos animales con la prueba galvánica se obtiene el mismo nistagmus que en animales normales, con lo que los trastornos del equilibrio que produce la intoxicación estreptomícinica parece que deban ser atribuidos a alteración periférica y no a lesión vestibular central.

KLEIN y VAN DEINSE experimentaron en conejos a los que administraron fuertes dosis de estreptomycin. Efectuaron las pruebas calórica y rotatoria de los canales semicirculares y examinaron las reacciones de ascenso y descenso y los reflejos tónicos de ojos y ca-

beza. En la mayoría de los casos aparecieron eliminados más precozmente los reflejos de los conductos semicirculares que los otolíticos. En muchos casos observaron disociación de los diversos reflejos que se explicarían difícilmente por ataque del laberinto periférico y mucho más fácilmente por la acción sobre vías reflejas del sistema nervioso central. Hablaría en favor de que el punto de ataque del medicamento fuese central el que, en ocasiones, hubieran encontrado un nistagmus posicional en distintas posiciones de la cabeza después de la inyección intravenosa de estreptomycin. En un caso de nistagmus calórico intenso de 42 sacudidas por minuto desapareció súbitamente después de la administración de una gran dosis de medicamento. Los mismos autores examinaron la influencia de la estreptomycin sobre el nistagmus de Bechtcherw. Este nistagmus aparece al eliminar artificialmente uno de los laberintos; si después de conseguido esto, se inyecta intravenosamente una fuerte dosis de estreptomycin, los ojos permanecen quietos por la destrucción del sistema vestibular nuclear que había quedado indemne. Los experimentos de KLEIN y VAN DEINSE demostrarían, pues que la estreptomycin tiene una acción central.

HAWKINS, intoxicando gatos, con dosis de 200 a 400 mg. diarios ha obtenido una reducción del efecto

microfónico de la cóclea; según sus experiencias el fármaco tendría una acción periférica.

Por el contrario CHRISTENSEN, HERTZ y RISKAER llegan a la conclusión de que la estreptomina no tiene influencia sobre el efecto microfónico, ni aun empleando dosis que, al decir de estos autores, provoquen sordera. Este resultado va en contra de la localización del efecto de la estreptomina en las células sensoriales periféricas.

ZANZUCHI, en colaboración con RAINIS, ha encontrado que el nistagmus cefálico del palomo desencadenado por las pruebas calóricas, efectuadas con agua fría y caliente, no se producen después de la aplicación de cristales de estreptomina en las ampollas del conducto semicircular horizontal.

ZANZUCHI también ha demostrado que al estimular con un sonido intenso un canal semicircular, abierto según la técnica de Tulio, se produce una midriasis y una rotación del bulbo ocular en el plano del canal estimulado. Pero que esta reacción está abolida después de colocar estreptomina en la abertura practicada. El medicamento inhibiría el estímulo sonoro, tanto en lo que se refiere al movimiento de traslación del bulbo como al de la abertura de la pupila. La acción del medicamento sería, por tanto, periférica, según los experimentos de ZANZUCHI.

CERQUIGLINI y CHIUCIN han demostrado que la aplicación de es-

treptomina en el conducto semicircular abierto quirúrgicamente da lugar a trastornos más intensos y prolongados que la sola abertura del conducto. Esto parecería indicar una acción selectiva de la estreptomina sobre el aparato periférico.

SKOOG y HAMMER han intoxicado cobayos y han estudiado las reacciones, en primer lugar a la excitación periférica mediante pruebas rotatorias, de inclinación, etc., y en segundo lugar a la excitación central mediante la inyección intracarotídea de suero de conejo anticarnero que desencadena un síndrome carotídeo que no describe, pero que sería el resultado de la excitación central de los núcleos vestibulares del bulbo. Pocos días después de haber detenido la administración del medicamento, no hay respuesta a la excitación periférica y, en cambio, hay reacción central evidente. Habría lesión del epitelio sensorial en conductos semicirculares y mácula y, en cambio, los núcleos centrales estarían incólumes. Transcurridos más días no obtiene respuesta central. La lesión central sería secundaria a la periférica.

Material y técnica

1. *Animales de experimentación y dosis.* — Se han estudiado los temporales y bulbos de nueve cobayos supervivientes de los 18 que empezaron la experiencia.

Los 18 cobayos, con los cuales empezamos nuestro estudio, se dividieron en tres grupos:

I. — 6 cobayos recibieron 60 miligramos diarios de fármaco.

II. — 8 cobayos recibieron 40 miligramos diarios de fármaco.

III. — 4 cobayos recibieron 20 miligramos diarios de fármaco.

Estas dosis diarias correspondían a cantidades del medicamento para intoxicar 70 Kg. de peso animal (el peso medio del cuerpo hu-

pudo obtenerse toda la droga de una misma procedencia por coincidir el período de tiempo que se inyectaron los animales con escasez de medicamento en el mercado farmacéutico. Se empleó estreptomina Merk, Lilly, Specia y Pfizer.

Durante la experiencia se perdieron 4 cobayos del primer grupo y otros 5 del segundo. Al administrar las fuertes dosis de estos grupos procedentes de un determinado lote de medicamento, murieron en pocos días estos animales.

Núm. Cobayo	Anagrama	Duración de la intoxicación en días	Dosis total estreptomina	Sacrificio y fijación
2	BE1	115	7,5	Decapitación
6	BE2	115	7,5	»
8	CD1	130	11,5	éter
11	CD3	130	11,5	uretano
12	CS	70	3,2	»
13	DEP4	70	3,2	éter
14	ESP	70	3,2	decapitación
15	2P	30	0,6	éter
16	2P2	30	0,6	uretano

mano), a razón de 12, 6 y 3 gramos diarios respectivamente. La última cantidad es la que se utilizaba corrientemente al comienzo del uso del fármaco y con la que se presentaban porcentajes bastante elevados de trastornos vestibulares. Las dos primeras dosificaciones las utilizamos para poder observar signos bien demostrativos de intoxicación, tanto a la exploración como al estudio histológico.

Se ha utilizado sulfato de estreptomina de diversas marcas. No

En el grupo tercero no hubo ninguna muerte, a pesar de haber sido inyectados con estreptomina del mismo lote que causó la muerte en los animales de los otros grupos. Posiblemente la sustancia causante de la intoxicación aguda que motivó la pérdida de estos cobayos debía contener impurificaciones del medicamento sin importancia en terapéutica humana, por no usarse a estas grandes dosis que hemos empleado en nuestra experiencia.

No se ha llevado a cabo el estudio histológico de los temporales y bulbo de estos cobayos por haber sido encontrados muertos y no poderse fijar en buenas condiciones.

Los cobayos 2 y 6 han sido sometidos a una dosificación de 80 miligramos diarios durante un mes, como dosis complementaria hasta alcanzar una dosis total de 7,5 gr. Los cobayos 8 y 11 han sido sometidos durante 40 días más a razón de dos inyecciones diarias de 100 miligramos hasta alcanzar una dosis total de 11'5 grs. cada uno (véase cuadro). Con esto hemos pretendido obtener intoxicaciones fuertes con el fármaco objeto de nuestro estudio.

2. *Exámenes laberínticos.* — Cada semana los animales han sido sometidos a la exploración laberíntica con las pruebas siguientes:

A) Pruebas rotatorias. La mesa rotatoria que hemos hecho construir es circular, de 1 m. de diámetro, con rodamiento a bolas y va provista de un mango para darle impulso. Se han colocado los animales en posición radial y se han dado diez vueltas en 20 segundos. Se ha observado el nistagmus céfálico durante la rotación y el nistagmus ocular y céfálico después de la rotación.

B) Mesa inclinada. En tabla de madera, forrada con saco, a los efectos de evitar que los cobayos

resbalaran, se han examinado las reacciones a la inclinación.

C) Reflejos de enderezamiento. Sosteniendo los animales con la mano, se ha observado el funcionamiento de los reflejos propioceptivos que permiten adoptar la posición normal de la cabeza, sea cual fuera la posición del cuerpo en el espacio.

D) Reacción a la caída. Se han lanzado los cobayos desde 1 m. de altura a una tela tensa donde no podían recibir ningún daño, primero con la cabeza hacia abajo y seguidamente en cualquier posición, y se ha observado el comportamiento de la cabeza, tronco y extremidades, durante la caída y el modo cómo llegaban a la superficie de choque.

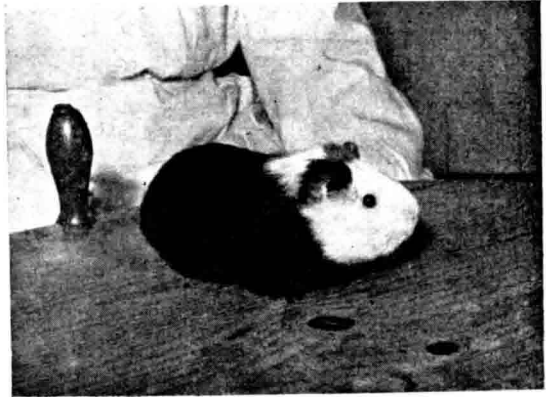
3. *Métodos histológicos.*

A. Temporales.

a) *Fijación.* — Hemos efectuado fijaciones intravitales anestesiando los cobayos con éter, abriendo el tórax mediante la resección del peto esternal y después aislando aorta e inyectando en su interior suero fisiológico caliente que salía por una pequeña solución de continuidad practicada en las cavas; cuando el animal estaba desangrado y el suero salía casi blanco, hemos inyectado solución de Wittmaack. En los casos tratados de esta forma el neumotórax que se producía inmediatamente des-



Cobayo núm. 6.—Reacción a la caída, anormal. El animal cae de cabeza sin la protección de las extremidades.



Cobayo núm. 12.—Desviación de la cabeza durante la prueba rotatoria.



Cobayo núm. 12. Reflejos de enderezamiento, normales. El animal mantiene la posición de la cabeza, sea cual sea la posición del tronco.



Cobayo núm. 12.—Reacción a la caída, normal. Obsérvese la extensión de las extremidades y la buena orientación de la cabeza.

pués de levantar el peto esternal, mataba al animal en pocos segundos y el corazón, aunque latía algunos minutos, no permitía este período de tiempo llevar a cabo la maniobra del aislamiento de aortas y cavas con comodidad. Para evitar estos inconvenientes, en otros animales hemos aislado carótidas y yugulares. Hemos inyectado en carótida, solución de Wittmaack, que también mata en pocos segundos al animal, después de fuertes y rápidas contracciones. En ocasiones hemos anestesiado previamente a los animales inyectando, por vía subcutánea, uretano en solución al 25 por 100 y a la dosis de 1 y $\frac{1}{2}$ gramos por Kg. de peso. De esta forma se efectúa más cómodamente la liberación de carótidas y yugulares.

En otros casos, se ha efectuado la fijación según el proceder de WERNER, sacrificando al animal por decapitación e introduciendo los temporales en solución de Wittmaack.

Los huesos temporales, una vez aislados del cráneo, se han introducido en la solución de Wittmaack (bicromato potásico, 5 gr. agua destilada 85, formalina 10, ácido acético puro 3). En esta solución permanecieron de 6 a 8 semanas, en estufa, a la temperatura de 37°. Pasado este período de tiempo se han lavado en agua corriente durante 48 horas. Seguidamente se introdujeron en una solución de formolacético (formalina,

10 gr., ácido acético puro 3, agua destilada hasta 100), en donde estuvieron cuatro semanas.

b) *Decalcificación.*—Se ha empleado la solución de ácido nítrico al 0,5 por 100 en donde permanecieron 12 días.

c) *Inclusión y coloración.*—Los temporales se han incluido en parafina y teñido con hematoxilina y eosina.

B. Sistema nervioso central.

Se ha aislado el sistema nervioso central, excepto la médula, levantando la calota craneal e incindiendo las primeras vértebras cervicales. Se ha procedido a la extracción en masa del cerebelo, bulbo y parte más superior de la médula. Inmediatamente se procedió a la introducción del sistema nervioso central extraído en formol al 10 por 100.

Se ha procedido a cortar el bulbo y la protuberancia por congelación y se han teñido los cortes con el método de carbonato de plata (método de Río Hortega).

Se han estudiado los núcleos coliculares (ventral y dorsal) y los núcleos vestibulares (triangular, de Deiters de la raíz descendente y de Bechterew), en todos los cuales se ha observado su característica estructura normal que en las figuras se detalla. Tampoco se han encontrado lesiones en cerebelo, en el que especialmente se

han estudiado las células de Purkinje.

Resultado de nuestra experimentación

A. *Exámenes funcionales.*—La reacción a la inclinación se ha mantenido normalmente en todas las exploraciones efectuadas a cada uno de los animales.

La prueba rotatoria ha demostrado que en todos los casos hay desviación de cabeza durante la rotación. En cambio el nistagmus cefálico y ocular postrotatorio se hallaba en algunos casos notablemente disminuido. En animales del Grupo I y II hemos observado que al hacer la prueba rotatoria se presentaba una elevación de la cabeza.

En ningún animal hemos encontrado anomalías de los reflejos de enderezamiento.

En pocos casos se ha observado una reacción anormal a la caída. Faltaba el estiramiento de los miembros inferiores y el animal chocaba violentamente con la cabeza contra la superficie a la que se dejaba caer.

No hemos encontrado ninguna relación entre la cantidad de fármaco administrada y la intensidad de los fenómenos anormales observados a la exploración clínica.

B. *Exámenes histológicos.*—En cada uno de los grupos de cobayos de nuestra experiencia han sido encontradas lesiones similares,

si bien en los protocolos que a continuación se detallan nos referimos exclusivamente a aquellos animales en los que se han obtenido imágenes más intensas y demostrativas.

Aislados los huesos temporales, hemos hecho los cortes en sentido sagital. En el seno aéreo anterior se ha percibido bien la cóclea, lo que nos ha servido de pauta para la dirección de los cortes, obteniendo de esta manera la sección de los conductos semicirculares, así como del vestíbulo con utrículo y sáculo. Hemos tenido la fortuna incluso de lograr algunos cortes de la imagen de desembocadura de un conducto en el utrículo, de tal manera que en un mismo campo histológico nos ha sido dado poder observar simultáneamente una cresta ampular y una mácula estática del utrículo.

Como quiera que el laberinto membranoso es tan delicado, en algunas ocasiones y por efecto de la retracción provocada por los reactivos, una parte de la pared, especialmente en los conductos semicirculares, ha perdido su posición normal, separándose de la pared ósea, si bien manteniendo su continuidad de tal manera que siempre ha resultado perfectamente reconocible la estructura correspondiente.

Grupo I

Cobayo núm. 8 (CD1). Dosis de estreptomina, 11,5 grs.

CD1. Epitelio de las crestas, especialmente en las vertientes laterales hasta el tercio inferior con células ciliadas como insufladas, de citoplasma claro como el agua

y eosinófilo, continuándose paulatinamente con las células cuboides del resto de la pared. En la misma cúspide de la cresta, el epitelio tiene los mismos caracteres de cé-



Cobayo núm. 8.—Conducto semicircular y utrículo, con la desembocadura del primero en el segundo. En la parte inferior, el conducto con la cresta, hacia arriba a la derecha, el utrículo. Se percibe claramente la mácula estática en el último. En la parte opuesta, pigmento en el epitelio indiferente.



Cobayo núm. 8.—Cresta a gran aumento. Obsérvese el aspecto hinchado de las células y que la anchura del epitelio en las vertientes es mayor que en la cúpula, la presencia de algunos cilios en las primeras y la ausencia de los mismos en la última. Estroma de conectivo fibrilar con finos capilares.



Cobayo núm. 8.—Mácula estática con bastantes cilios conservados y estatolitos.

y núcleos pequeños de aspecto picnótico. El último tercio de la vertiente de la cresta tiene las células con citoplasma más denso

lulas insufladas, igualmente con núcleos pequeños y con la única diferencia respecto a las vertientes de ser aquí el espesor de la

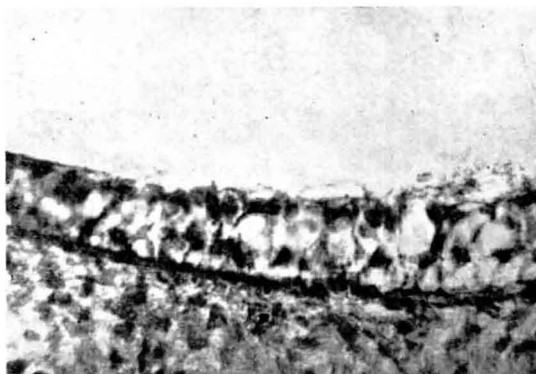
pared epitelial menor que en aquellos, aproximadamente en un tercio la membrana basal del epitelio se percibe como un tracto finísimo muy bien dibujado, todo a lo largo de la zona donde las células se encuentran como insufladas y, en cambio, es más ancha y no tan precisa en las partes finales de la cresta. En el vértice de la cresta falta la substancia gelatinosa. En las partes laterales altas de la vertiente se conservan algunos cilios irregulares, sobre los que aparecen grumos, posibles residuos de la substancia gelatinosa, estando la cúspide completamente pelada. En toda la cresta aparece claramente dibujada la cutícula superficial limitante.

El eje mesenquimal de la cresta está constituido por un delicado conectivo fibrilar de finas fibras colágenas y con fibrocitos fusiformes o estrellados, algunas células linfoides,

células conservan sus cilios y otros los han perdido, si bien aquí aparecen aquellos propiamente, no como perdidos, sino como desprendidos y mezclados con la masa gelatinosa (membrana de los estatolitos), formando en conjunto una banda a pequeña distancia del epitelio, banda en la cual se encuentran algunos estatolitos. Aunque no puede desecharse la posibilidad de que se trate de un artefacto, puede pensarse también que las células epiteliales han perdido, por la acción del fármaco, la fuerza de cohesión que en estado normal mantiene a los cilios en su posición. El tejido fibrilar subepitelial es aquí más denso que en la cresta.

Cobayo núm. 2 (BE1). Dosis de estreptomina 7,5 gr.

En este animal, la mácula estática está recubierta por epitelio de altura normal, ba-



Cobayo núm. 2.—La mácula estática con epitelio vacuolizado. Falta la membrana de los estatolitos.

des, con algunos capilares de paredes muy finas. Este tejido conjuntivo se continúa sin límites precisos con el endostio del conducto óseo. A nivel de la reflexión de la cresta con el resto de la pared del conducto y sobre la membrana basal se ven algunos minúsculos gránulos pigmentarios. El resto de la pared del conducto está formada por un epitelio cuboide aplanado que descansa sobre el delicadísimo tejido reticular del espacio perilinfático. Por fuera de la cresta auditiva existe un abundante depósito de finísimo pigmento melánico, bien entre las células del epitelio del conducto, bien en células del conectivo del espacio perilinfático, íntimamente adosadas al epitelio.

La mácula aparece formada sobre el mismo modelo que las vertientes de la cresta, con sus células ciliadas insufladas. Muchas

sal muy neta y engrosada, células muy insufladas, cilios casi totalmente desaparecidos; falta la membrana de los estatolitos. Por debajo de la mácula hay abundante conectivo fibrilar con finos capilares en continuación con el endostio, encontrándose en este tejido submacular alguna célula pigmentaria. No hay pigmento a nivel del epitelio indiferente.

En la cresta de los conductos semicirculares se encontraron alteraciones de la misma naturaleza e intensidad que en el cobayo 1.

Grupo II

Cobayo núm. 11 (CD3). Dosis de estreptomina: 11,5 grs.

Hemos estudiado el utrículo que está re-

cubierto por epitelio alto muy insuflado con basal y membrana cuticular bien definidas. Los cilios aparecen relativamente conservados. No hay magma gelatinoso, conservándose grupos de otoconias. Por debajo de la mácula se observa tejido conectivo fibrilar que se continúa con el endostio. Epitelio indiferente, normal. Llama la atención la ausencia total de pigmento. Crestal del conducto semicircular con epitelio igualmente insuflado y sin cilios en la cúspide.

Cobayo núm. 13 (DEP4). Dosis de estreptomina: 3,2 grs.

En un corte del vestibulo óseo con el utrículo y sáculo se han observado ambas máculas estáticas. Las dos ofrecen el mismo cuadro histológico, con membrana basal poco aparente y cuticular más diferenciada. Células muy insufladas, más en el utrículo que en el sáculo.



Cobayo núm. 13.—Mácula del utrículo. Epitelio insuflado, cutícula muy aparente en parte, algunos grupos de estatolitos.

Los cilios han desaparecido casi totalmente, en mayor medida en el utrículo. Tanto en un lado como en el otro, se observan grupos de otoconia sobre la mácula, más abundante en el sáculo que en el utrículo. Hemos encontrado abundante pigmento por debajo del epitelio indiferente.

Grupo III

Cobayo núm. 16 (2P2). Dosis total de estreptomina: 0,6 grs.

En el epitelio de la mácula estática (sáculo) las células cilíndricas bajas, con membrana basal no muy netamente diferenciada y membrana cuticular bien dibujada. Se ven solamente algunos cilios conservados. La substancia gelatinosa ha desaparecido casi completamente, conservándose algunos grupos mezclados con escaso número de otoconias. Por debajo de la mácula se observa



Cobayo núm. 16.—Sáculo en vista panorámica. A la derecha, al borde de la figura, la mácula. A partir de su extremo superior, un largo arco de pigmento en el epitelio indiferente.

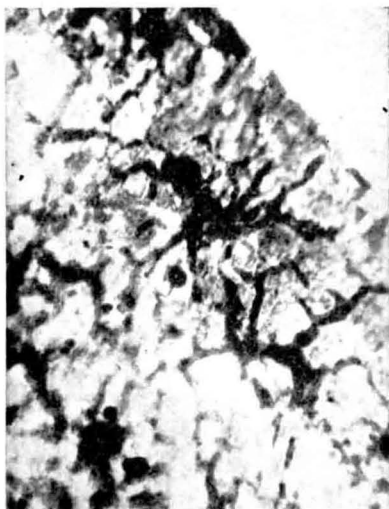
un delicado tejido conectivo fibrilar en continuación con el endostio. Llama la atención la gran cantidad de pigmento existente inmediatamente por debajo del epitelio indiferente del resto del sáculo, a partir de un extremo de la mácula y extendiéndose aproximadamente por un tercio del perímetro del sáculo.

Por la circunstancia de haber seccionado de plano la membrana del sáculo en uno de los cortes, puede reconocerse la forma completa de las células pigmentarias, según se afirma en la fig. c. 16. Se trata de elementos celulares provistos de numerosas expansiones gruesas ramificadas y repletos de pigmento moreno oscuro que por sus características físicas e histoquímicas corresponde a la melanina.

Examen histológico del sistema nervioso central:

En los núcleos centrales no hemos encontrado lesiones de las neuronas en nin-

guno de los casos, observándose las estructuras ganglionares normales, tanto en lo que respecta a la distribución de las neuronas como a la substancia tigróide del citoplasma



Colayo núm. 16.—Vista de plano de la pared del sáculo, en la que se aprecian claramente las células melánicas.

y estructura del núcleo y nucleolos. Los vasos sanguíneos están dispuestos con arreglo a la normalidad.

DISCUSION

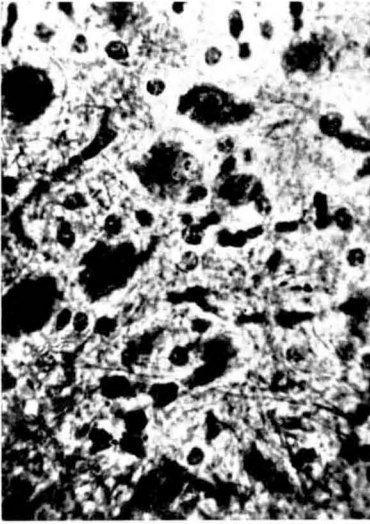
De la revisión de todos los trabajos publicados sobre la acción de la estreptomycin sobre el VIII par, no puede sacarse ninguna conclusión definitiva sobre la localización de las lesiones que produce el medicamento sobre este nervio y sus ramificaciones en sistema nervioso central. Tal es la disparidad de opiniones sobre esta cuestión, tanto en los trabajos clínicos como experimentales.

Apoyándose en hechos clínicos,

se ha afirmado que la lesión es periférica. Parece estar de acuerdo con este criterio; la disociación entre las pruebas calórica y rotatoria por un lado, y la prueba galvánica por otro. En la mayor parte de enfermos con trastornos vestibulares debidos a la estreptomycin, se encuentra una abolición de reacción a las pruebas calóricas y rotatorias y, en cambio, conservan a la prueba galvánica. Se admite con las reservas consiguientes, expuestas en el capítulo en que estudiamos esta prueba, que la conservación de reacción al paso de la corriente, indica una integridad del nervio y sus conexiones centrales. La disociación mencionada iría, pues, a favor de localizar la lesión en el aparato vestibular periférico. El trastorno estreptomycinico sería de origen periférico según KESER, porque el nistagmus oftalmokinético permanece influenciado.

Va a favor de que la lesión sea central la hipoexcitabilidad simétrica de ambos laberintos, que es lo que ocurre en los casos de trastornos vestibulares por estreptomycin.

Pero la clínica no podría resolver el problema de la localización de la lesión estreptomycinica. Sólo los estudios anatomopatológicos podrían dar luz sobre esta cuestión. Aquí debemos mencionar los trabajos de GRAF. Este autor ha tenido la oportunidad de examinar temporales de enfermos de meningitis tuberculosa tratados con es-



Núcleo coclear ventral.



Núcleo coclear dorsal.



Núcleo triangular.



Neuronas del núcleo de Deiters.

treptomicina y ha hallado lesión en las crestas y máculas, amén de alteración de las células ciliadas de la primera y segunda vuelta, del caracol en casos que tenían sordera. Faltaba completar el estudio con la observación de las posibles lesiones en centros vestibulares bulbares. Pero esto no pudo ser realizado. Señalemos que el trabajo de GRAF es importantísimo, porque es el único que ha permitido comprobar la lesión histológica de estreptomicina en el hombre.

No es fácil poder recoger los órganos que son objeto de este estudio, como bulbos, protuberancias y temporales de sujetos que hayan tenido precisamente síntomas de intoxicación laberíntica por estreptomicina. Y es por esto que se ha provocado la laberintosis experimental en animales, por este medicamento. Esto ha permitido estudiar los síntomas que daban la intoxicación al animal y llevaba a cabo después en ciertos trabajos, el estudio histológico de los centros vestibulares de las terminaciones nerviosas periféricas.

Hemos referido las experiencias que en el terreno fisiológico se han llevado a efecto para localizar el asiento de la lesión producida por la estreptomicina. Podemos reunir las en tres grupos: un primer grupo de experiencias parece localizar el punto de ataque del medicamento en las terminaciones periféricas del aparato vestibular (VADERHAE-GHE, MARCO CLEMENTE, ZANZUCHI,

RAINIS). Un segundo grupo parece atribuir la acción del medicamento en los núcleos vestibulares (KLEIN VAN DEINSE, CHRISTENSEN, HERTZ, RISKAER). Por último, según un tercer grupo de investigaciones (SKOOG), la acción sería doble (central y periférica) y aun precisando más habría un ataque primitivo del epitelio sensorial de máculas y crestas al que seguiría la lesión central.

Sin menoscabo de estas experiencias, debemos convenir que el estudio anatomopatológico es más exacto. La comprobación de las lesiones provocadas por el medicamento en las terminaciones periféricas del aparato vestibular o de sus núcleos centrales, debe resolver más concretamente el problema, puesto que así se observa directamente la lesión sin recurrir a rodeos de interpretación, que en el caso del aparato vestibular están más expuestos a error, dado lo poco precisos que son nuestros conocimientos sobre conexión de vías vestibulares. Pero en los estudios efectuados con base anatomopatológica, no hay unanimidad. Para unos (CAUSSÉ, BERG, RUEDI), la lesión es periférica. Para otros (WINSTON y colaboradores), STEVENSON y CHRISTENSEN y colaboradores) la lesión es central. En fin, SECONDI encuentra lesiones de asiento preferentemente central, pero también periféricas a ciertas dosis. RUEDI y colaboradores han

hallado doble lesión: central y periférica.

De nuestro estudio se deduce que la acción primitiva del medicamento es periférica. Si otros autores han encontrado lesiones centrales, debemos, pues, suponer que son secundarias a la lesión periférica. La alteración comienza en el epitelio sensorial periférico. La lesión central en núcleos bulbares y células del tallo cerebral con ellos relacionados, sobrevendría si acaso a esta lesión del epitelio sensorial.

¿Cómo tendría lugar el efecto de la estreptomycinina sobre el aparato vestibular?

La acción de la estreptomycinina en el aparato vestibular periférico se concibe por la penetración del medicamento en el líquido endolinfático. Su entrada en este líquido determinaría un cambio en la concentración de iones y consiguiente alteración del epitelio (BLOHMKE). Se afectaría el citoplasma celular y su metabolismo. GUILD opina que podría haber una lesión de los vasos subyacentes al epitelio sensorial que sería la causa primaria. A consecuencia de esta lesión se presentaría la alteración de las células sensoriales. La idea de GUILD apoyada por BERG no se ha comprobado todavía histológicamente.

La acción del medicamento en las células de los núcleos vestibulares, en las que se ha demostrado produce una inhibición de formación del núcleo proteínas, es igual

a lo que ocurre en las infecciones neurotóxicas por virus (FLOBERG, HAMBERG, HYDEN) Esta opinión es defendida por GERMAN y NAKO que señalan la gran semejanza entre el trastorno vestibular de la medicación estreptomycinica y la llamada encefalitis vestibulotrópica, debida a infección por virus.

Sea en las células nerviosas centrales o sea en las periféricas, la acción tóxica de la estreptomycinina, dada su composición química, podemos suponer que tendría lugar en el núcleo. En efecto, la estreptomycinina se compone de dos porciones: 1.ª Estreptosa y metilglucosamina y 2.ª Estreptomycinina y guanidina. La estreptosa es una pentosa y este cuerpo químico forma parte de los nucleótidos. Se ha demostrado que la estreptomycinina se une químicamente a las nucleínas (véase EULER, citado por PUIG MUSET) y que esta unión se hace por medio de la guanidina. En las células del núcleo de DEITERS esta acción perturbadora del metabolismo nucleico se ha puesto de manifiesto por las experiencias de FLOBERG y colaboradores. En las células epitelio-sensoriales del utrículo y crestas ampulares, no se han hecho experiencias en este sentido y, por lo tanto, no tenemos evidencia de que así ocurra.

Sea cual fuere su mecanismo de acción, lo evidente es que la estreptomycinina destruye el aparato vestibular. Aprovechando esta acción

se ha empleado en el tratamiento de la enfermedad de Menière. FOWLER fué el primero que recomendó esta medicación para tratar esta enfermedad. Con él obtuvo buenos resultados. No tenemos experiencias de este tratamiento al que consideramos debe sólo llegarse a emplear en última instancia, es decir, después de haber fracasado toda la medicación que está a nuestra mano recurrir, antes de llegar al tratamiento quirúrgico. En los casos en que la enfermedad de Menière conserve todavía buena audición, debe recordarse la posible acción tóxica del medicamento sobre la cóclea. En estos casos, podría utilizarse la estreptomycin solamente bajo un riguroso control audiométrico.

Pero mejor sería todavía en todo caso, indicar esta medicación en los casos en que se ha perdido la audición o en aquellos en los que por las intensas molestias a que da lugar el vértigo, el enfermo esté dispuesto a todo, incluso al acto quirúrgico. Antes de llegar a éste sí que está indicado provocar una degeneración del aparato vestibular. La sección química sería en

todo caso menos expuesta que la sección quirúrgica.

CONCLUSIONES

1.º La intensidad del trastorno funcional e histológico producido por el medicamento no está relacionada con la dosis administrada. Sin duda influye en ello el factor constitucional.

2.º Se observa una hipoexcitabilidad a la prueba rotatoria.

3.º No se modifica el reflejo de enderezamiento en ningún caso a las dosis empleadas.

4.º La lesión observada es periférica, más intensa en las crestas que en las máculas.

5.º Estriba en una vacuolización de las células sensoriales, con pérdida extensa de los cilios y de la substancia gelatinosa.

6.º En las máculas se conservan en algunos casos los cilios en cantidades apreciables, así como la membrana de los estatolitos.

7.º No se han observado lesiones de los núcleos de origen del clear y vestibular.

BIBLIOGRAFIA

ALAJMO, Ettore: Bolletti o d. malaltie dell'ore, de go a del naso, p. 460, 1952.
AZOY, Adolfo: Bol. del Consejo General de Médicos, p. 15, 1949.
BARONI, V. y GRAMACIO, V.: Minerva Médica, p. 734, 1949.
BARONI, ZANZUCHI, MASERA: Arch. Tisiol.,

1950, Ac. Excerpta, Médica, p. 41, 1951.
BARR, FLOBERG: Acta Oto-Laryn Supl. LXXV, p. 5, 1949.
BARR, B.: Acta Otolarin. Supl. LXXV, p. 5, 1949.
BEHAGUE: Rev. Neurologique, p. 64, 1948.
BENHAMOU, Ed. y SITBBON, J.: Bol. de la

- Société Oto-rhin-lar de Lyon et de la Région. Les Anals, d'Oto-laryngol. p. 267, 1949.
- BENHAMOU, E. y SITBBON, J.: Les Annals d'Oto-Laryngologie. p. 267, 1949.
- BENHAMOU, Ed. y DESTAING, F.: La Presse Médicale. p. 517, 1948.
- BERG, KARL: Acta Oto-laryngol. Supl. XCVII. p. 159, 1951.
- BERNARD, E., KREIS, B., LOTTE, A.: Presse Med. p. 117, 1948.
- BIGNALL, CROFTON, THOMAS: Brit. Med. Journal. p. 1224, 1951.
- BLOCH, A. y ZHA, J.: Les Annales d'Oto-Laryngolo 7.67. p. 481, 1950.
- BLOHMKE, D.: Zeitt. Für Lary, Rhinal. Otol. p. 121, 1950. Ac. Excerpta Médica. p. 397, 1950.
- BOUTIER: Rev. de Lar. Otol. Rhinol. fasc. 56, p. 246, 1949.
- BROCK, Benjamin: Streptomycin in the treat. of tuberc. sinuses. p. 35, 1948.
- BROWN, HINSCHAW: Proc. of the Staff Meeting of the Mayo Clinic. p. 345, 1946.
- BUSTINZA, F.: Medicina y Cirugia de Guerra, p. 475, 1949.
- CALICETI G. y PASTORELLI, R.: L'Oto-Rino-Laringologia Italiana. p. 349, 1950.
- CASTILLO SÁIZ, José: Acta Pediátrica Española. p. 715, vol. VI, 1948.
- CAUSSÉ, R.: Les Annals d'Otolaryngologie. p. 518, 1949.
- CARR, BROWN, HODGSON, NEILMAN: J.A.M.A. p. 1223, 1950.
- CERQUIGLINI, S. y CHIUCIN, G.: Boll. Soc. Ital. Spre. p. 644, 1951. Ac. Excerpta Médica. p. 155, 1952.
- COHEN y GLINSKY: Journal of Allergy. p. 62, 1951.
- CONTE MAROTTA, Ruggero: Actualidad Médica. p. 461, tomo 34, 1948.
- CHASSE, J.: Calif. Med., 1951, Ac. Excerpta Médica. p. 38, 1952.
- CHASSE, J.: American Rev. Tuberc. p. 418, 1947.
- CHAVANAZ, J.: Memoires de l'Academia de Chirurgie, p. 254, 1949.
- CHRISTENSEN, HERTZ, RISKAER, VRA-JENSEN: Annals of Otol-Rhinol-Laryngol. p. 343, 1951. Acta Oto-Laryngol. Supplement XCV. p. 165, 1951.
- DESSY, J.: Gaceta Médica española. p. 6, 1952.
- DESHMUKH, P. L.: The Indian Gazette, 1952.
- DIX, M. R., HALLPIKE, C. S., HARRISON, Spencer: Brain. p. 241, 1949. Journal of Otol-Rhinol-Laryngol. p. 735, 1948.
- DOMON, CHARLES, KILBOURNE, Fh. KING, E. A.: Amer. Rev. Tub. p. 564, 1949.
- DON CONWAY y GREGORY, Juan: The Lancet, 72, 1952.
- EDISON, FROST, GRAESSLE, HAWKINGS, KIMA, MUSCHETT, SILBER, SOLOTOWSKY: Amer. Rev. Tuber. p. 487, 1948.
- SCHER, F. y ROOST, H. P.: Práctica Oto-Rhino-Laryngol. p. 300, 1951.
- ESCUDERO y MENÉNDEZ: Medicamenta. p. 240, 1949.
- FARRINGTON, R., HULL-SMITH, H. BUNN, A. MAC DERMOTT: J.A.M.A. p. 679, 1947.
- FIGI, HINSHAW: Transact. Amer. Acad. of Oftalm. and Otolaryng. 1946. Ac. Excerpta Médica. p. 21, 1948.
- FLOBERG, HAMBERGER, HYDEN: Acta Otolaryngológica. Sypl. LXXV. p. 36, 1949.
- FOUQUET, CAUSSÉ, GUILLON, BOUTIER: Bull. et Memoires de la Soc. Médicale des Hôpitaux de Paris. p. 821, 1948.
- FOUQUET: Presse Médicale, p. 131, 1948.
- FOWLER, Pr.: Practica Oto-rhino-laryngol. p. 243, 1948.
- FOWLER, E. P. y FEIND, C. R.: Acta Oto-Laryngológica. Sp. LXXVIII. p. 193, 1949.
- FOWLER y FEIND: American Rev. of, Tuber. p. 39, 1949.
- FRONZAROLLI, Lu: Annali di laringologia, otologia, rinol. e faring. p. 52, 1952.
- GLORIG: Annals of Otol-Rhinol. and Laryngol. p. 327, 1951.
- GOIDSENHOVEN, F. VAN, STEVENS, R.: Schw. Mediz. Woch. p. 1021, 1950.
- GRAF, K.: Schw. Mediz. Wochenschrift. p. 793, 1949. Act. Oto-Laryngol. p. 121, 1951.
- GREUEL, H.: Medizinische Klinik, p. 1177, 1949.
- GUILLÓN y PETIT: Troubles oculo-moteurs e troubles vestibulaires au cours de la streptomycinothérapie, p. 539, 1949.
- GUILD, S.: Annals of Otology Rhinology and Laryngology. p. 806, 1952.
- HAMBERGER, C. A.: Acta Otolaryngológica. Sup. LXXVIII. p. 54, 1949.
- HAWKINS, J.: Ac. Excerpta Médica. p. 323, 1951.
- HAWKINS, Jr., LARIE, M. M.: Annals of Otol-Rhinol. and Laryngol. p. 789, 1952.
- HAWKINS y MUSCHETT: The American Journal of the Medical Science. p. 754, 1947.
- HECK, LYNCH y GRAVES: Annals of Otol. Rhinol. and Laryngol. p. 101, 1953.
- HENRY, HOUSEWRIGHT y BERKMAN: Journal of Bacteriology. p. 447, 1949.
- HERTZ, H. y RISKAER, N.: Acta Oto-Laryngológica. Supl. XCV. p. 177, 1951-52.
- HOUSON, TOMSETT, MUSCHENHEIM, MAC-DERMOTT: American Rev. Tuber. p. 501, 1945.
- IBÁÑEZ, R. y RUÍZ GIJÓN, J.: Antibióticos, estudio biológico general. Ser. 27, 1948.

- INGELSTEDT y WALANDER: Acta Otolaryngológica, XXVII, p. 523, 1949.
- JIMÉNEZ CERVANTES, L.: Acta Otorrinolaringológica Española, p. 829, 1952.
- JONGKEES, L. B. y HULK: Acta Oto-Laringológica, p. 225, 1950.
- KLEYN y VAN DEINSE: Acta Oto-Laringológica, XXXVIII, p. 3, 1950.
- KESER, H.: Arch. fur Ohre. Nas. Kehl. p. 475, 1950. Act. Excerpta Médica, p. 471, 1950.
- KUHN, L.: Artz. Wogh, 1950, Ac. Excerpta Médica, p. 290, 1951.
- LAUNOY, L. y LAGODSKY, H.: Arch. Int. Pharmacodynam, 83, p. 255, 1950.
- LAVERGNE, V. de: Presse Médical. p. 132, 1948.
- LOHDE, H.: H.N.O. p. 22, 1953.
- LEROUX: Les Annals d'Oto-laryngologie, p. 194, 1950.
- MACDERMOTT: J.A.M.A. p. 52, 1947.
- MADIGAN y SWIFT: The Lancet, Tom. I. p. 9, 1947.
- MAHER-LOGHAN: Tubercle, 342, 1952.
- MAJER, E.: Wiener Klinische Wochenschrift, p. 844, 1948.
- MARCO CLEMENTE, J.: Revista Esp. Oto-neuro-oft. p. 525, 1949.
- MATTEI, Ch.: La Presse Médicale, p. 134, 1948.
- MOFFIT: Annals of Otol. Rhinol and Laryngol. p. 1006, 1948.
- MOINDROT, Ch., GAILLARD, J.: Le Journal Médecine, Lyon, p. 667, 1948.
- MOLITOR, H.: Arch. Int. Pharmacodyn, 1947.
- MOLLARET: Sentiment actuel sur la streptomycinoterapie, p. 124, 1948.
- MONTANDON, A.: Praxis, p. 37, 1948.
- MOZOTA SAGARDÍAS Clínica y Laboratorio, p. 188, 1953.
- MUSCHET y MARTLAND: Archiv. of Pathology. Ac. en J.A.M.A. p. 1242, 1947.
- NAITO, T., KAWAMURA, Y.: Ac. Excerpta, p. 175, 1951.
- NORTHINGTON: Archives of Otolaryngology, p. 380, 1950.
- OLIVÉ BADOSA: Rev. Clínica Española, p. 124, 1950.
- PARTEARROYO: Progresos de Terapéutica Clínica, p. 657, 1948.
- PALACIOS, J. M. de y SEGOVIA DE ARANA, J. M.: Rev. Clin. Española, p. 372, tomo XXIV, 1947.
- PEIK, HIGT y CAMPBELL: Archives of Otolaryngology, p. 251, año 1949, II.
- PUIG MUSET: Contribución a la Clínica de la estrepptomisine de J. Cornudella. Ed. Miguel Servet, 1950.
- RAKE, PANSY, JAMBOR, DONOWICH: Amer. Rev. Tuberculos. p. 479, 1948.
- REBATTU, PLANCHER, PERRIN: Journal Français d'Oto-Rhino, núm. 7, 1952.
- ROHMER, F. y GREINER, G.: Rev. d'Oto. Neuro. Oftalmol. p. 293, 1949-50.
- ROQUES, ARLET, RIBAUT, CAYZERGUES: Bull. et Mémoires de la Soc. Méd. des Hôpitaux de Paris, p. 121, 1950.
- RUBIN, WINSTON, METZ-RUBIN y BERWICH: Annals of Otolology-Rhinology and Laryngology. p. 108, 1951.
- RUEDI, L.: The Laryngoscope, p. 613, 1951.
- RUEDI, FURRER, LUTHY-ESCHER: Acta Otolaryngológica. Sup. LXXVIII. p. 67, 1949.
- RUSSI, U.: Práctica O.R.L. p. 523, 1948.
- SECONDI, U.: Arch. Ital. Otol. p. 570, 1951.
- SIROTA, H.-TORRINGTON, CONN y JONES: The laryngoscope, p. 1287, 1948.
- STEVENSON, L. D., ALVORD, Ec. CORREL, J. W.: Ac. Archiv. of Otolaryng. p. 836, tomo II, 1949.
- SKOOG: Discusión en transactions of the XI Northern Oto-Laryngological Congres. Oslo, 1950. Acta Oto-Laring. Supl. XCV. p. 181, 1951.
- STROEDER y SIMÓN: Arch. Int. pharmacod. 83, 256, 1950.
- THOMAS, J. A.: Proc. R. Soc. Med. 1950. Ac. Excerpta Médica, p. 289, 1951.
- TOMPSETT: Annals of Otolology, Rhinology and Laryngology. p. 181, 1948.
- TUCKER, W.: Americ. Rev. Tuberculos. p. 753, 1949.
- VANDERHAGE, H.: Archives Int. de Pharmacodynamie et Therapie, p. 269, LXXIX, 1949.
- VILANOVA, X., CARDENAL, C.: Actas Dermo-Sifiliográficas. p. 881, 1948-49.
- WALKER: The Lancet, p. 159, 1952.
- WALLNER: Annals of Otolology, Rhinology and Laryngology. p. III, año 1949.
- WATSON, Eh.: J.A.M.A. Tomo 137, p. 1599, 1947.
- WINSTON, LEWEY, PARENTEAU, MARDEN y CRAMER: Annals of Otolology, Rhinology and Laryngology. p. 738, 1948.
- ZANZUCHI, G.: Archivio Italiano di Otolologia. Tomo 63, p. 225, 1952.
- ZANZUCHI, G. y RAINIS, E.: Arch. Ital. Otol. p. 200, 1951.