

Cátedra de Fisiología Animal Aplicada de la Facultad de Farmacia  
de la Universidad de Madrid  
Sección de Fisiología Comparada del Instituto Español  
de Fisiología y Bioquímica del C. S. I. C.  
(Prof. Dr. J. Lucas Gallego)

## Acción experimental del difosfato y monofosfato de tiamina sobre el corazón

por

J. Ardaiz-Solchaga y J. Lucas-Gallego

(Recibido para publicar el 21 de marzo de 1959)

### Introducción

Hemos expuesto en un trabajo anterior (1) la acción del trifosfato de tiamina (TPT) sobre el corazón y publicamos ahora el resultado de las experiencias realizadas, siguiendo las mismas técnicas, con el difosfato de tiamina (DPT) o cocarboxilasa y con el monofosfato de tiamina (MPT).

Hemos hecho el presente trabajo con la intención de comparar la acción de los tres derivados fosfóricos.

Existen muchos trabajos sobre acción de la cocarboxilasa. Se sintetiza, a partir de la tiamina que se ingiere en la alimentación, en el hígado, donde sufre una fosforilización a expensas del ácido adenosintrifosfórico (ATP) en presencia de una fosforilasa: así se forma el ácido adenílico (adenosinmonofosfórico o AMP) y pirofosfato de tiamina o cocarboxilasa, que es el cofermento de la carboxilasa.

Este cuerpo es de gran interés en el organismo, porque es indispensable para la descarboxilación del ácido pirúvico, cuerpo en el que converge el metabolismo de glúcidos, lípidos y pró-

tidos y cuyo exceso en el organismo inhibe la deshidrogenasa láctica, indispensable para la transformación del ácido láctico en pirúvico. Posteriormente éste, mediante una descarboxilación oxidativa, termina produciendo  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  y energía, a través de una serie de procesos ya conocidos en los que interviene en varias ocasiones la carboxilasa. (En realidad, no sólo la cocarboxilasa, sino también el ácido alfa-lipoico, formando la lipotiamina.)

Esta es la acción llamada carboxilásica del DPT, pero recientemente WARBURG y DICKENS (2) han demostrado que, además del ciclo clásico de degradación del glucógeno, puede ocurrir otro en el cual la glucosa-6-fosfato pasa a ácido 6-fosfogluconico; éste, a ácido 3-ceto-6 fosfogluconico, que da por un lado  $\text{CO}_2$  y por otro ribulosa-5-fosfato, la cual sigue tres caminos: una molécula no se transforma, otra se isomeriza y pasa a ribosa-5-fosfato y otra se desdobra en una diosa y fosfogliceraldeído. La ribulosa y la ribosa sufren después una condensación, catalizada por la transcetolasa que las convierte en sedoheptulosa monofosfato y fosfogliceraldeído. La sedoheptulosa da, en presencia de una aldolasa, eritrosa monofosfato y dioxetona, la cual se une al fosfogliceraldeído y da fructosa monofosfato, mientras que la eritrosa monofosfato llega al mismo resultado uniéndose, también en presencia de una aldolasa, a la diosa procedente de la ribulosa. Esta es la llamada acción transcetolásica y el cofermento de la transcetolasa es la carboxilasa.

El DPT es, además, el cofermento de la carboxilasa, que interviene en la formación de acetoína a partir de dos moléculas de acetaldeído. En extractos de miocardio se ha visto una substancia de acción carboxilásica, que cataliza la formación de acetoína. Esta se elimina rápidamente del organismo. Por tanto, la formación de acetoína es una verdadera desintoxicación del organismo cuando está sobrecargado de ácido pirúvico [GIBERT-QUERALTÓ (3)].

Por último, KIESSLING y LINDAHL (4) señalan que la cocarboxilasa puede actuar a veces como portadora de grupos fosfato, por medio del grupo pirofosfórico que posee.

Lo anteriormente expuesto sobre el modo de acción del DPT nos explica la mejoría que con su administración es posible observar en cardiopatas descompensados. Si la cardiopatía es metabólica, el DPT por sí solo será capaz de mejorar el miocardio. Si hay un trastorno dinámico, lo principal serán los tónicos cardíacos (digital, etc.). Pero aun en estos casos, el metabolismo estará alterado, entre otras razones porque, al disminuir el aporte de  $\text{O}_2$  al miocardio, hay un acúmulo de pirúvico

y de láctico en sangre, que disminuirá al actuar la cocarboxilasa (GIBERT-QUERALTÓ).

En cuanto al monofosfato de tiamina, LOHMAN y SCHUSTER (5) lo han obtenido durante la hidrólisis ácida de la tiamina; no le concedieron importancia fisiológica.

ROSSI-FANELLI, SILIPRANDI y FASELLA (6) lo han encontrado cromatográficamente en el hígado del ratón blanco, obteniendo además manchas de tiamina, TPT y DPT.

No es un producto intermediario de la formación del DPT; LEUTHARDT y NIELSEN dicen que si se inyecta en el organismo MPT, pierde en primer lugar el grupo fosfato y después la tiamina sola se fosforiliza con un grupo pirofosfato, pasando a DPT, que es el que actúa.

GENAZZANI y REDUZZI (7) estudian la acción del MPT y la comparan con la de la tiamina. Basados en estos estudios, MOURIQUAND y colaboradores (8) obtienen resultados muy parecidos, pues para conseguir el *shock* tiamínico tienen que emplear una dosis de MPT cinco veces mayor, y aun así la muerte no es tan rápida. Sacan la consecuencia de que, en el pichón, el MPT tiene una acción antiberibérica tan buena como la tiamina, con la ventaja de ser menos tóxico.

También con el MPT, como con respecto al TPT, han demostrado DE LA FUENTE y BEGUE (9) que no tiene acción carboxilásica.

### Material y métodos

Hemos hecho las experiencias en corazón aislado de rana, técnica de Straub; en corazón «in situ» de gato; y, finalmente, en perro, en el preparado cardio-pulmonar de Starling (LUCAS GÁLLEGO y ARDÁIZ, l. c.).

En las gráficas de rana, la parte superior corresponde al sístole y la inferior al diástole.

En las gráficas de gato y en las de perro, el primer registro corresponde a la presión arterial (en el gato, tomada en la carótida); el segundo es un registro eléctrico, que conectado con un carrete de Rumkorff nos mide el tiempo de duración de la corriente inducida que estimuló el corazón; el tercero es el registro del latido auricular y el cuarto el del latido ventricular.

En las ranas hemos empleado el DPT y el MPT en concentraciones variables, desde  $10^{-8}$  a  $10^{-3}$ , disueltos en suero Ringer. En gato y en el preparado cardiopulmonar la dosis fue de 10 mg. de derivado tiamínico por kilogramo de peso.

## Resultados

### a) Resultados obtenidos en las experiencias realizadas en rana

A concentraciones bajas ( $10^{-8}$  y  $10^{-7}$ ) el DPT no tiene acción apreciable sobre el corazón aislado de rana. A concentraciones mayores ( $10^{-6}$  y  $10^{-5}$ ) produce un efecto inotrope negativo que sólo se aprecia transcurridos unos minutos. Si aumentamos más la concentración ( $10^{-4}$  y  $10^{-3}$ ) el efecto inotrope negativo es más acusado, pudiendo verse incluso a  $10^{-3}$  una caída brusca del latido cardíaco en cuanto colocamos en la cánula el suero con DPT.

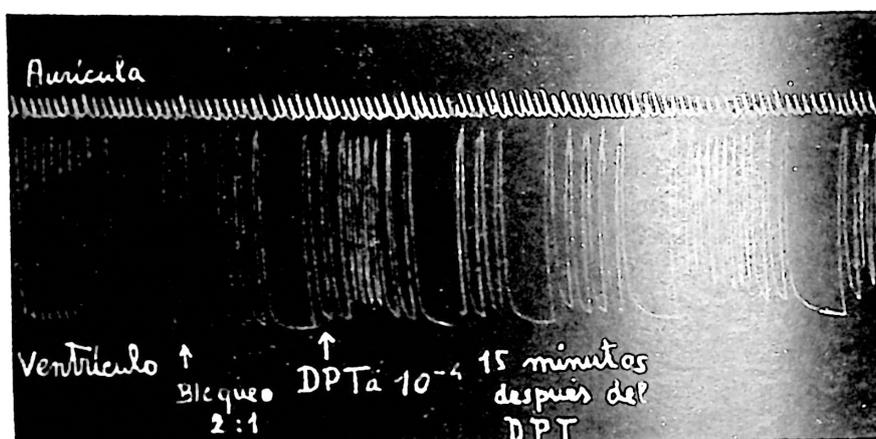


Figura 1

El bloqueo cardíaco en la rana no es corregido por el DPT a ninguna concentración (fig. 1); tanto en el caso de los bloqueos provocados con el ion K como con los que se presentan espontáneamente algunas veces en el curso de las experiencias.

Estos resultados son prácticamente superponibles a los obtenidos con el MPT a las mismas concentraciones.

En el corazón de rana perfundido con un exceso de K y Ca o con Ba, hemos visto que ni el DPT ni el MPT protegen al corazón contra un exceso de K (dosis empleadas: de 10 a 50 mg. de ClK/100 c.c. de suero Ringer). El DPT tiene un efecto protector frente a los trastornos originados por un exceso de ion Ca (dosis empleadas: de 75 a 400 mg. de  $\text{Cl}_2\text{Ca}$  por 100 c.c. de Ringer) como vemos en la figura 2, en la que 350 mg. de  $\text{Cl}_2\text{Ca}$ /100 c.c. de suero han sido necesarios para provocar la parada sistólica de un corazón, el cual, después de la perfusión con DPT a  $10^{-4}$ , y ante una dosis igual de

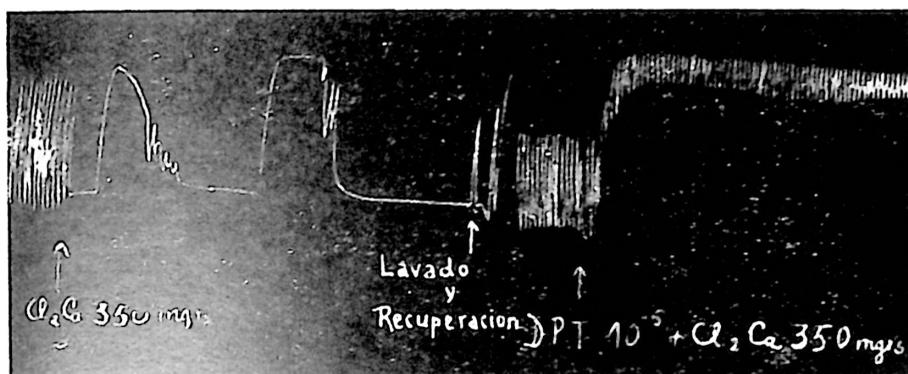


Figura 2

$\text{Cl}_2\text{Ca}$ , no sufre parada sistólica, aunque se vea una clara dificultad para la relajación diastólica. Frente al ion Ba (dosis empleada: de 50-100 mg. de  $\text{Cl}_2\text{Ba}/100$  c.c. de Ringer) el DPT tiene una acción protectora dudosa. Y el MPT no hemos visto que tenga acción ni frente al ion Ca ni frente al Ba, habiéndose empleado también a la concentración de  $10^{-4}$ .

Cuando aplicamos al corazón de Straub una corriente inducida, se produce una detención que continúa después de la interrupción de la corriente; el corazón se recupera con latidos de poca amplitud y, en general, bradicárdicos. Pero si en el líquido de perfusión del corazón, colocamos un derivado tiamínico, la recuperación cardíaca se verifica de modo distinto. En la figura 3 vemos los efectos referidos de la corriente inducida en un corazón perfundido con Ringer; a continuación se le mantiene unos minutos — por lo menos 10 — latiendo bajo la acción del suero con DPT a  $10^{-5}$  y vemos cómo no hay variación ni en el tiempo de detención del corazón ni en la bradicardia de la recuperación, pero puede verse la energía de estos latidos que no solamente no tienen disminuida la ampli-

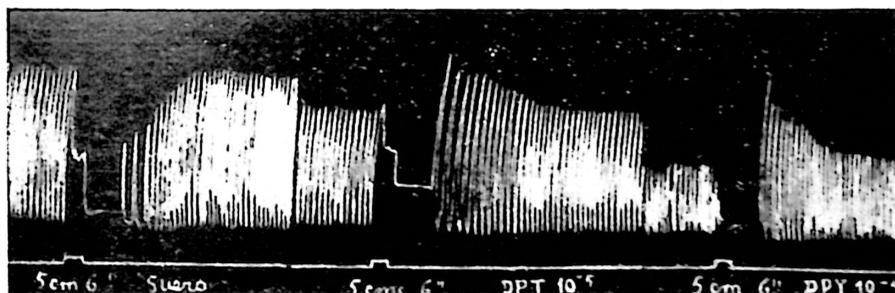


Figura 3

tud, sino que es mayor que antes del estímulo eléctrico. Y después de la perfusión con DPT a  $10^{-4}$  todavía es más acusado este dato. Nótese también que el efecto inotrope negativo producido por el DPT del que ya hemos hablado y cómo se acusa tanto más cuanto mayor es la concentración del DPT.

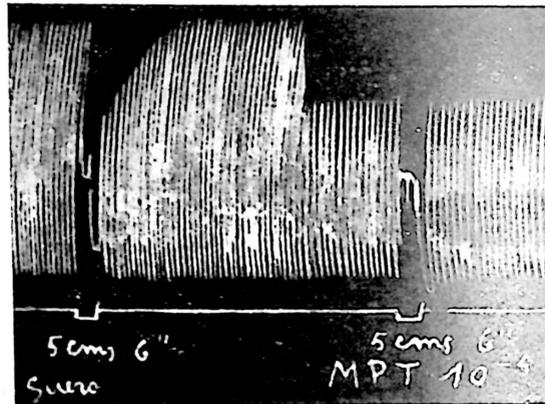


Figura 4

Si perfundimos con MPT, hemos de llegar a concentraciones mayores para observar efecto protector contra la corriente inducida: no basta, por lo general,  $10^{-5}$ , sino que hay que llegar a  $10^{-4}$  (fig. 4).

b) *Resultados obtenidos en las experiencias realizadas en gato*

Provocamos también la fibrilación mediante una corriente inducida directamente aplicada al corazón «in situ».

Obtenemos un 60 % de resultados positivos. Calificamos de positivo un resultado cuando después de la inyección del derivado fosfórico de la tiamina el corazón se recupera espontáneamente de la fibrilación provocada por un tiempo determinado de estímulo eléctrico; cuyo estímulo, en una experiencia testigo realizada en el mismo animal, causaba fibrilación irreversible espontáneamente y sólo recuperable mediante compresión cardíaca (hasta la parada absoluta) inyección de adrenalina: 1 c.c. de la sol. al 1/10.000, y masaje. También damos como positiva una experiencia cuando el tiempo de fibrilación después de la inyección de DPT o MPT es menor que en la experiencia testigo, aun cuando en ambas la recuperación sea espontánea.

Un ejemplo del primer caso lo tenemos en la figura 5: la aplicación al corazón de una corriente inducida durante ocho

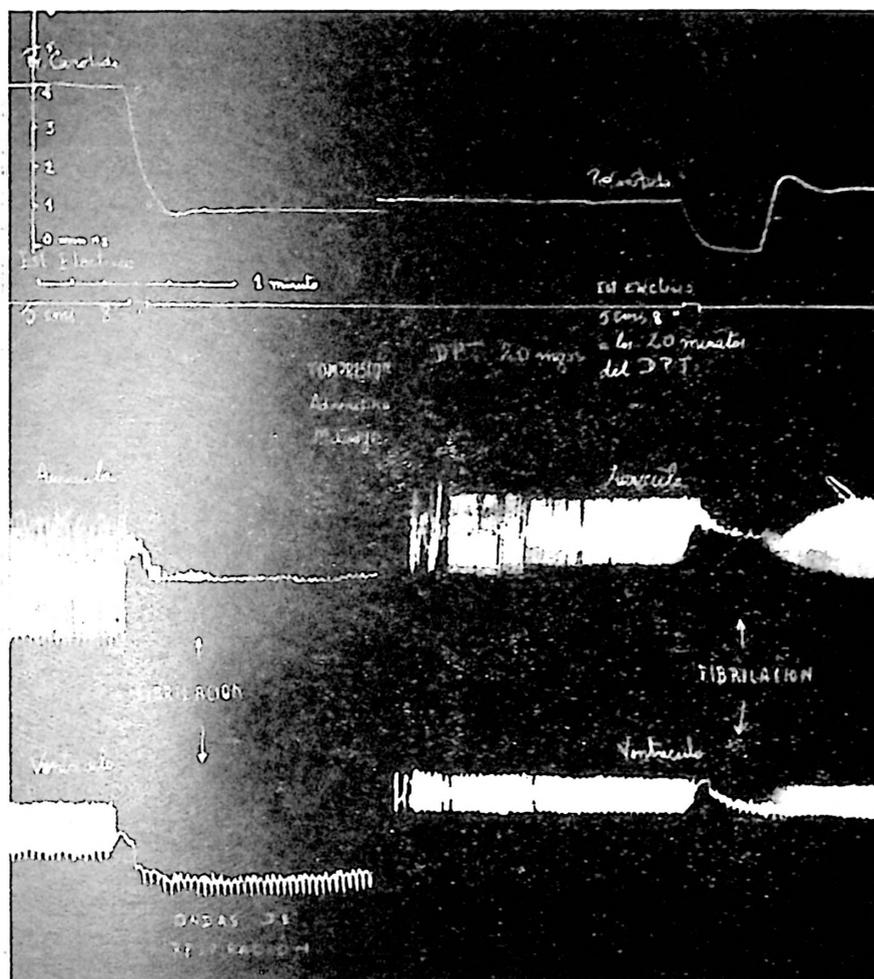


Figura 5

segundos produce una fibrilación irreversible (la caída de la presión no es hasta 0 mm. de Hg., porque pinzamos la carótida antes para que no entre  $SO_2Mg$  desde el manómetro). Recuperamos el corazón con compresión manual, adrenalina y masaje. A continuación inyección de 20 mg. de DPT por vía intracardíaca. A los 20 minutos repetimos un estímulo eléctrico de iguales características y provocamos una fibrilación de la que espontáneamente se recupera el corazón.

De igual manera hemos procedido con el MPT. El tanto por ciento de resultados positivos ha sido menor : 45 %. En la figura 6 hemos provocado la fibrilación ventricular solamente

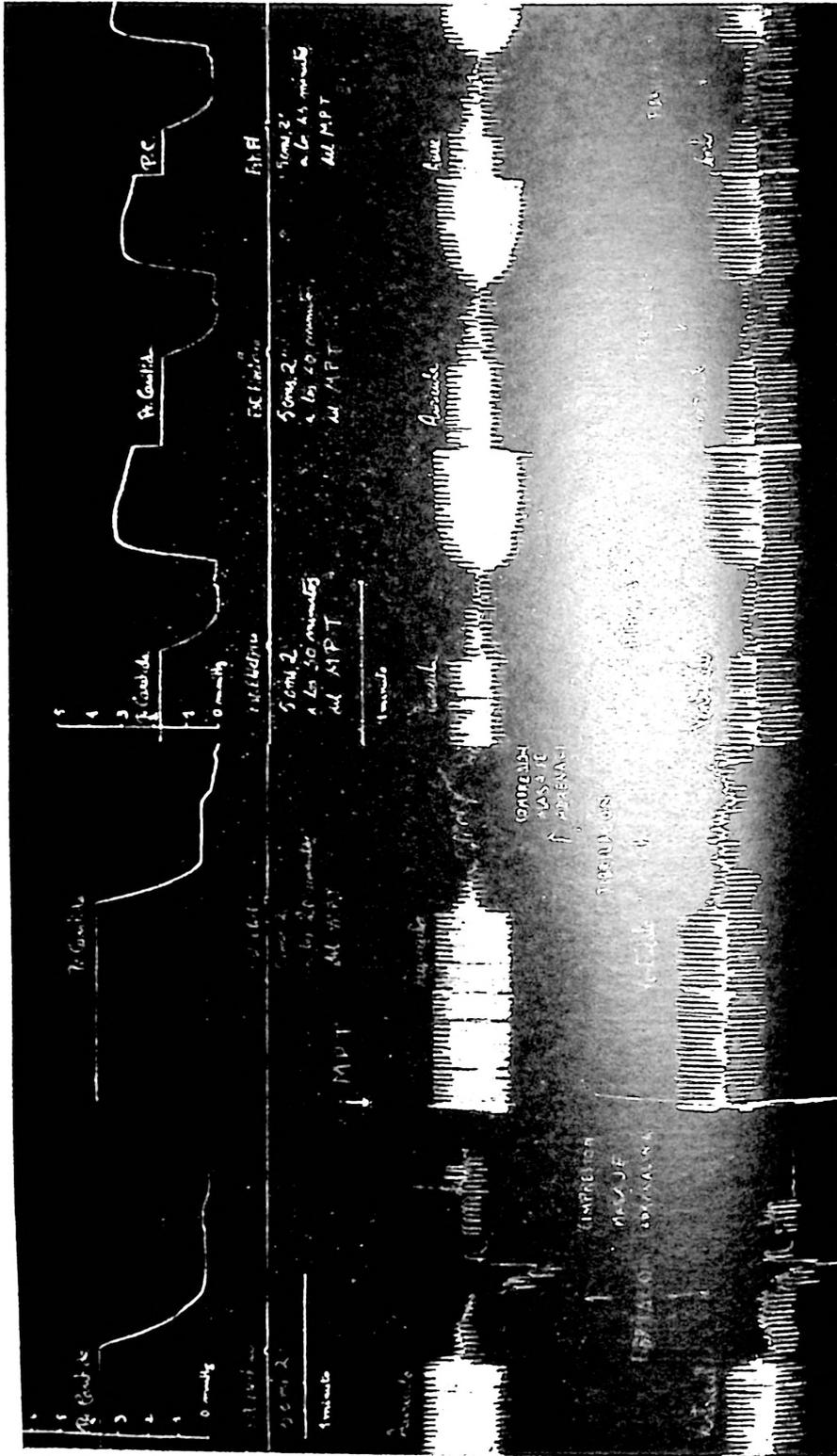


Figura 6

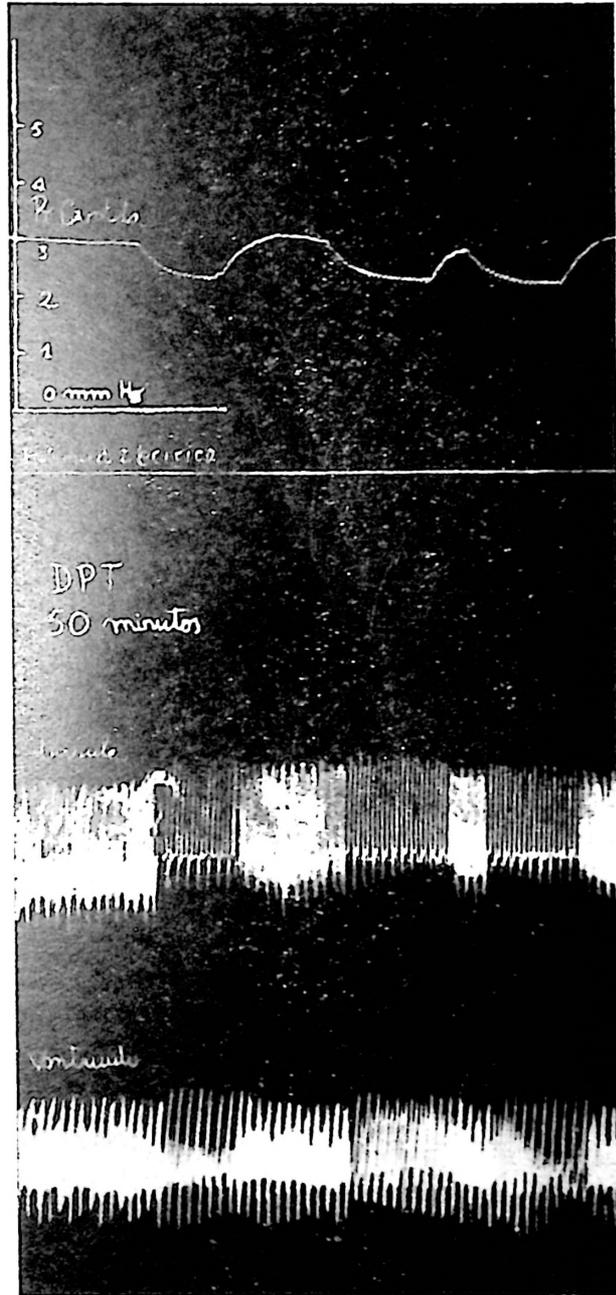


Figura 7

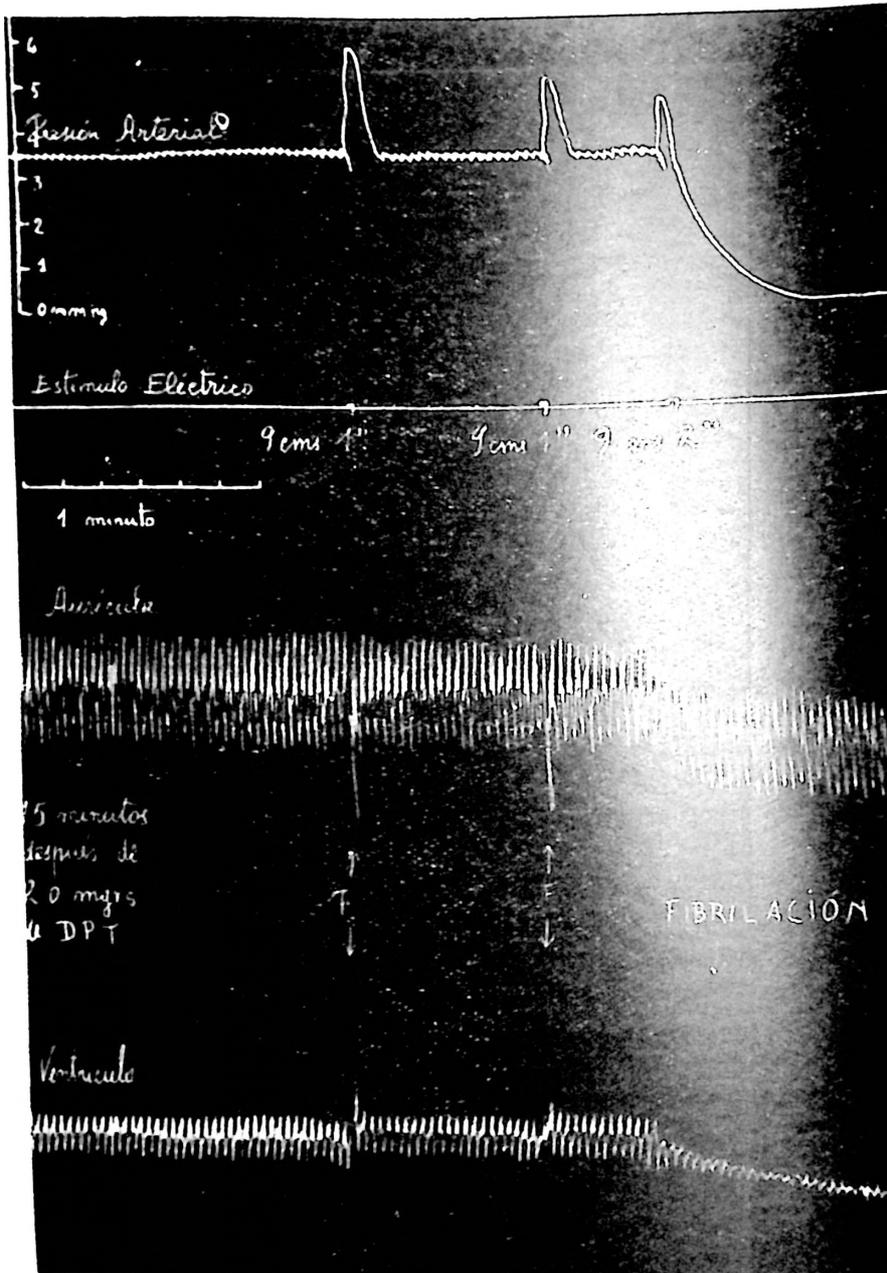


Figura 8

con dos segundos de estímulo eléctrico (el tiempo necesario para producir la fibrilación irreversible es muy variable de unos animales a otros. Procedemos a desfibrilar con compre-

sión, adrenalina y masaje. Inyección intracardíaca de MPT a la dosis indicada y a los 20 minutos, repetimos el estímulo de dos segundos, que produce también una fibrilación de la que tenemos que sacar al animal. En cambio, a los 30, 40 y 45 minutos, los dos segundos de corriente inducida producen una fibrilación que el animal vence espontáneamente.

Ni el DPT ni el MPT (ni tampoco el TPT) son capaces de regularizar el ritmo cardíaco. En la figura 7 vemos una gráfica correspondiente a un gato que presentaba bloqueos auriculoventriculares; después de la inyección del DPT, al final de la experiencia, se siguen viendo los bloqueos.

Atribuimos el descenso de la presión arterial que se observa en todos los casos al traumatismo que sufre el animal y a los repetidos choques eléctricos; pero la presión, después de haber descendido varios centímetros al principio de la experiencia, se estabiliza a una presión baja.

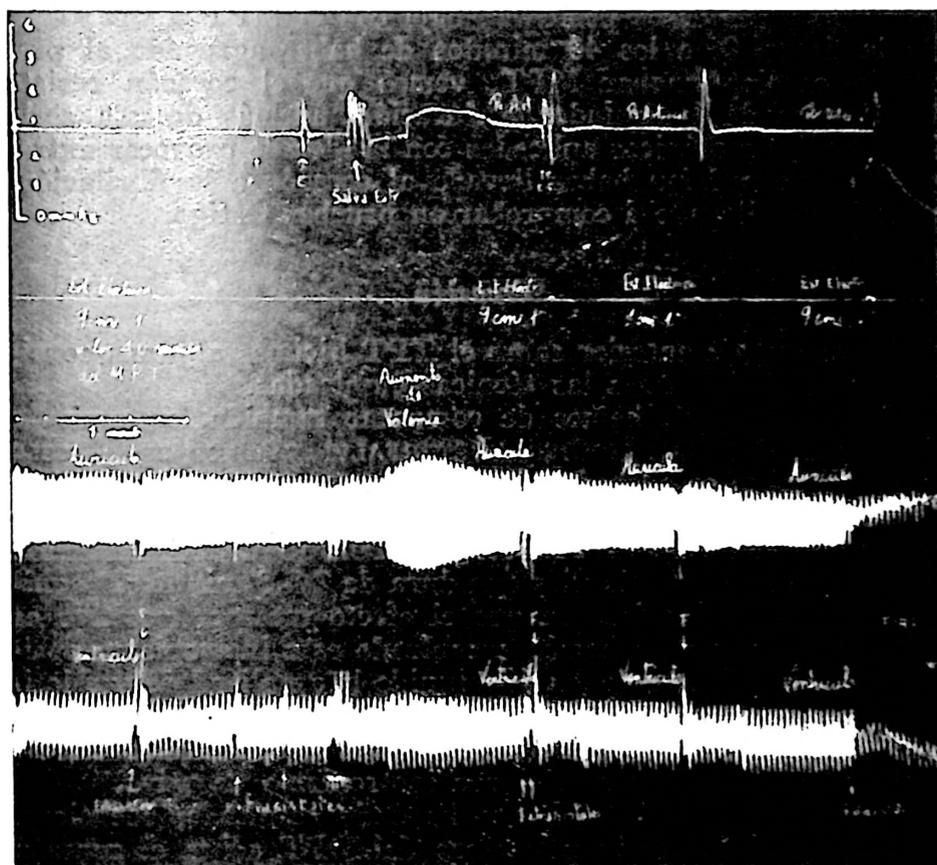


Figura 9

c) *Resultados obtenidos en las experiencias realizadas en perro*

Ya dijimos en nuestro trabajo citado anteriormente, que el valorar la positividad o negatividad de la respuesta era mucho más difícil en el perro que en el gato. En el perro tropezamos con el inconveniente de que las diferencias de tiempo de la corriente inducida que aplicamos al corazón son de 1 segundo; normalmente, con un estímulo de 1 segundo se presenta la fibrilación. Después de añadir el derivado tiamínico, hemos aplicado 2 ó 3 veces el estímulo de 1 segundo, sin conseguir fibrilación. Con un estímulo de 2 segundos de duración aparece fibrilación, siempre irreversible. Así sucede en la figura 8 después de administrado el DPT.

Guiados por la estadística obtenida en los perros testigo y en los utilizados para probar los derivados tiamínicos, no dudamos en aceptar estos resultados.

Tal estadística, que en los perros tratados con DPT supone un 75 % de casos positivos, baja con el MPT a un 50 %. En la figura 9, a los 40 minutos de haber agregado al preparado cardiopulmonar MPT, vemos que el corazón resiste 3 estímulos de 1 segundo de duración, además de una serie de estímulos mecánicos aplicados con la idea de provocar extrasístoles que podrían haber llevado al corazón a la fibrilación, como hemos llegado a comprobar en pruebas testigo.

### Discusión

En el trabajo anterior sobre el TPT hicimos algunas consideraciones en cuanto a las técnicas empleadas.

Como en aquel, hemos de comparar también las acciones vistas por PLOTKA, JEQUIER, PETERFALVI y otros en el caso del DPT sobre corazón de rana y gato.

PLOTKA y JEQUIER (10) dicen que en el corazón de Straub perfundido con DPT a  $10^{-6}$ - $10^{-5}$  encuentran una disminución en la amplitud de los latidos que dura de 2 a 3 minutos, seguida de una segunda fase en que el efecto inotrope positivo es evidente. Nosotros no hemos encontrado este inotropismo positivo; siempre el corazón ha disminuido la amplitud de sus latidos, tanto a esta concentración como en mayores ( $10^{-4}$  y  $10^{-3}$ ), pero aquí de manera más acusada. Con estas últimas cifras, también los autores franceses ven inotropismo negativo.

Por otra parte, el MPT nos ha dado resultados idénticos.

Respecto a la acción protectora del DPT sobre el corazón sometido a exceso de los iones K, Ca y Ba no podemos afirmar que sea tan manifiesta como ellos dicen. Así, no vemos que

el DPT se oponga, a ninguna concentración, a la parada diastólica provocada por exceso de K. Hay acción protectora frente a un exceso de ion Ca, pues evita que concentraciones de  $Cl_2Ca$  que en la experiencia testigo provocan parada sistólica, tengan esta acción sobre el corazón perfundido con DPT. Frente al ion Ba no está clara la acción protectora.

La corriente inducida produce sobre el corazón aislado de rana una detención que se continúa algún tiempo después de suprimida aquella. Este tiempo de detención es abreviado según VELLUZ, JEQUIER y PLOTKA (11) en el corazón perfundido con DPT a  $10^{-5}$ . En nuestros resultados no hemos visto esto, sino que — sin variaciones apreciables en el tiempo de detención — se ven los latidos de la recuperación cardíaca muy fuertes, en contraste con la experiencia testigo, en la que estos primeros latidos son muy débiles.

Hacemos notar, a este respecto, la diferencia que existe en la concentración necesaria para lograr este efecto en los tres derivados tiamínicos: ya dijimos que en el TPT bastaba con  $10^{-5}$ ; en el DPT viene a ser la misma cifra; pero en el MPT las dosis eficaces han de ser mayores ( $10^{-4}$ ).

El DPT no regulariza el ritmo alterado del corazón, como afirman los citados autores.

En las experiencias con corazón de gato, convenimos con PLOTKA y PETERFALVI (12) en que el DPT tiene acción antifibrilatoria a partir de los 10 minutos de la inyección y en que los resultados son inferiores a los logrados con el TPT. El tiempo que se mantiene esta acción — varias horas según estos autores — nosotros lo hemos visto llegar hasta 2 horas, por no resistir el preparado más tiempo en condiciones de experimentación. Dentro de este tiempo, creemos que el efecto antifibrilatorio es más eficaz algún tiempo después de los 10 minutos, como vemos en la figura 6.

Y, por último, elegimos la técnica del preparado cardiopulmonar en perro, para observar las respuestas de un corazón menos resistente a la fibrilación que el gato y, además, para hacerlo en «corazón aislado».

### Conclusiones

Comparando ahora los resultados observados con el DPT y MPT, con los que obtuvimos con el TPT (LUCAS GALLEG0 y ARDAIZ, l. c.) sacamos las siguientes conclusiones:

1.ª Los derivados fosfóricos de la Tiamina a concentraciones débiles ( $10^{-6}$  y  $10^{-5}$ ) tienen efecto inotrope negativo, el cual es más acusado a concentraciones mayores ( $10^{-4}$  y  $10^{-3}$ ).

2.<sup>a</sup> Los derivados fosfóricos de la tiamina no protegen el corazón de rana contra los efectos del ion K. Sin embargo, el TPT y el DPT protegen de las alteraciones producidas por el ion Ca. El TPT impide los efectos del ion Ba y el DPT tiene una acción dudosa. El MPT no protege frente a ninguno de los tres iones.

3.<sup>a</sup> Cuando la actividad del corazón de rana ha sido anulada por un estímulo eléctrico, los derivados fosfóricos de la tiamina no regularizan el ritmo cardíaco; sin embargo, la contracción consecutiva a la parada cardíaca es más amplia que en la experiencia testigo; e incluso más amplia que el latido normal, tanto más cuanto mayor sea el número de enlaces fosfóricos del derivado empleado.

4.<sup>a</sup> En el corazón de gato y asimismo en el de perro, sometidos a estímulo eléctrico, la protección por los derivados fosfóricos de la tiamina es evidente. Está en relación directa con el número de enlaces fosfóricos.

5.<sup>a</sup> Dada la diferencia de comportamiento existente entre los tres derivados tiamínicos, creemos que el TPT, tal como se piensa, pierda un grupo fosfórico y quede convertido en DPT. Este grupo fosfórico podría actuar como donador de energía, mientras el DPT conservaría sus funciones propias, resultando el efecto del TPT superior al del DPT solo.

Ya dijimos que la misma cocarboxilasa, según KIESSLING y LINDAHL (l. c.), puede actuar como donadora de grupos fosfato.

El MPT, dijimos también que podía perder su grupo fosfato y después fosforilizarse la tiamina resultante con un grupo pirofosfato, pasando a cocarboxilasa o DPT; todo lo cual explicaría que efectivamente hayamos encontrado un número de resultados positivos, aunque inferiores a los del TPT y DPT.

### Resumen

Se ha estudiado la acción experimental de los derivados difosfórico (DPT) y monofosfórico (MPT) de la tiamina sobre el corazón de rana, gato y perro, empleando las técnicas de Straub, corazón «in situ» y corazón-pulmón de Starling, respectivamente.

En rana se estudian los efectos frente a un exceso de iones K, Ca y Ba en suero Ringer; y frente a la inhibición cardíaca producida con una corriente eléctrica. En gato y perro frente a la fibrilación provocada también con una corriente inducida aplicada sobre el corazón.

Se obtienen más resultados positivos con el DPT que con el MPT y se comparan estos resultados con los obtenidos por los mismos autores en otro trabajo en el que, siguiendo las mismas técnicas, se empleó el trifosfato de tiamina.

### Summary

#### Experimental action of the diphosphate and monophosphate of thiamine on the heart

Continuing the study on the action of the phosphorilated derivates of thiamine on the heart, the results obtained with the diphosphate of thiamine (DPT) and the monophosphate of thiamine (MPT) are presented. Previously the action of the triphosphate of thiamine (TPT) was studied (LUCAS-GALLEGO and ARDÁIZ-SOLCHAGA) (1).

The techniques which were used were: isolated heart with a Straub cannule on the frog; «in situ» heart on the cat and Starling's heart-lung preparation on the dog. On the dog and on the cat the arterial pressure, the duration of the electric stimulus, the auricular beat and the ventricular beat have been registered.

It has been seen that DPT and MPT produce a inotropic effect on the heart of the frog at all the concentrations used ( $10^{-6}$  to  $10^{-8}$ ) so much more marked the greater the concentration. Smaller concentrations ( $10^{-7}$  and  $10^{-8}$ ) do not have any action.

It has also been seen that DPT has a protective action over an excess of Ca in Ringer's solution, its addition to the solution ( $10^{-1}$  concentration) prevents the absolute systolic failure, as happens when there is no DPT in Straub's cannule (fig. 2). Its protective action against the Ba ion is doubtful and it does not have any action over an excess of K in the Ringer solution.

MPT does not have any protective action against the three ions.

The action of both substances on hearts of frogs subjected to electric excitation has been studied and it has been seen that if it is true that the duration of cardiac inhibition diminishes, its recuperation is more energetic, as can be seen by the amplitude of the heart beats once the cardiac failure is overcome (fig. 3 and 4). DPT has shown itself to be superior to MPT.

On the hearts of the cat fibrillation has been provoked by the direct application of an induced current and it has been seen that the injection of DPT and MPT can diminish the duration of fibrillation previously produced on a control trial on the same cat and using the same duration of electric excitation. Other times fibrillation can be made reversible when in a control trial the cat was unable to overcome it by itself (fig. 5 and 6).

The results obtained with DPT have been superior to those of MPT.

In the cardio-respiratory preparation of a dog we have obtained through the addition of DPT and MPT to the circulating blood, a greater resistance to fibrillation by the heart caused by stimulation with an induced current. Even so, the time margins are very small and the results more difficult to evaluate than on the cat. Here also the results obtained with DPT are better than with MPT.

These results are comparable to those found on our previous work, already mentioned, on the action of TPT and it is thought that this, as already is known, once in the organism loses a phosphoric group and becomes DPT. This phosphoric group could act as an energy donator, while DPT would keep its own function, being this the reason why the effect of TPT is superior to that of DPT by itself.

Coccarboxylase, according to KIESSLING and LINDAHL (4), can act as a donator of phosphate groups.

MPT can lose its phosphate group and afterwards the resulting thiamine can phosphorilate itself with a phosphate group, becoming coccarboxylase or DPT; all of what would explain that, effectively, we should have found a number of positive results with MPT although inferior to those with TPT and DPT.

### Bibliografía

- (1) LUCAS-GALLEGO, J., y ARDAIZ-SOLCHAGA, J. : *R. esp. Fisiol.*, **15**, 33, 1959.
- (2) WARBURG y DICKENS : *III Congreso Internacional de Bioquímica*. Bruselas, agosto, 1955.
- (3) GIBERT QUERALTÓ, J. : *Introducción al estudio de la Enzimología*. Ed. Paz Montalvo, 77, 1957.
- (4) KIESSLING, K. H., y LINDAHL, P. E. : *Arkiv. für Kemi*, **4**, 285, 1952.
- (5) LOHMANN, K., y SCHUSSTER, P. H. : *Biochem., Z.*, **294**, 188, 1937.
- (6) ROSSI FANELLI, A., SILIPRANDI, N., y FASELLA, P. : *Science*, **116**, 711, 1952.
- (7) GENAZZANI, E., y REDUZZI, M. : *Policlín. Sez. Med.*, **61**, 223, 1954.
- (8) MOURIGUAND, G., EDEL, V., y CHIGHIZOLA, R. : *C. R. Soc. de Biol.*, **149**, 131, 1955.
- (9) DE LA FUENTE, G., y BEGUÉ, M. L. : *Hidrólisis de los ésteres fosfóricos de la tiamina; III Reun. de la Soc. de Cien. Fisiol.*, Madrid, mayo, 1956.
- (10) PLOTKA, C., y JEQUIER, R. : *C. R. de la Soc. Biol.*, **142**, 727, 1948.
- (11) VELLUZ, L., JEQUIER, R., y PLOTKA, C. : *C. R. de l'Acad. des Sciences.*, **226**, 735, 1946.
- (12) PLOTKA, C., y PETERFALVI, M. : *C. R. de la Soc. Biol.*, **142**, 836, 1948.