

112402

2005

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**



**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS POSTGRADO
SECRETARIA DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA**

“SINDROME DE MAFFUCCI”

**TESIS DE POSTGRADO
PARA OBTENER EL GRADO DE
SUBESPECIALISTA EN:
CIRUGÍA ONCOLÓGICA
P R E S E N T A :**

DR. JULIO RAMÍREZ BOLLAS

**ASESOR DE TESIS:
DR. ALEJANDRO PADILLA ROSCIANO**

MÉXICO, D. F.

2005

RAMIREZ BOLLAS, JULIO



0350702



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS POSTGRADO
SECRETARIA DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA

“SINDROME DE MAFFUCCI”

TESIS DE POSTGRADO
PARA OBTENER EL GRADO DE
SUBESPECIALISTA EN:
CIRUGÍA ONCOLÓGICA
P R E S E N T A :
DR. JULIO RAMÍREZ BOLLAS

ASESOR DE TESIS:
DR. ALEJANDRO PADILLA ROSCIANO

MÉXICO D. F. 2005



DR. JUAN W. ZINSER SIERRA
DIRECTOR DE DOCENCIA, INCAN



DR. EDUARDO CERVERA CEBALLOS
SUBDIRECTOR DE EDUCACIÓN MEDICA, INCAN



DR. ÁNGEL HERRERA GÓMEZ
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE CIRUGÍA ONCOLÓGICA
SUBDIRECTOR DE CIRUGÍA, INCAN



DR. MARTÍN GRANADOS GARCÍA
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE CIRUGÍA ONCOLÓGICA



DR. ALEJANDRO PADILLA ROSCIANO
ASESOR DE TESIS



DR. JULIO RAMÍREZ BOLLAS
RESIDENTE DE CIRUGÍA ONCOLÓGICA

SÍNDROME DE MAFFUCCI.

DEPARTAMENTO DE PIEL Y PARTES BLANDAS.
INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA, MÉXICO.

RESUMEN

El Síndrome de Maffucci es una enfermedad congénita rara, se presenta en asociación con encondromas múltiples (posibilidad de transformación maligna en 20 a 100%), hemangiomas de tejidos blandos y otras lesiones mesenquimatosas.

Caso 1. Femenino de 33 años. Presenta múltiples nódulos predominantemente en miembros superiores. A la exploración tiene deformidad articular y nódulos en manos de consistencia dura y blanda, móviles. Se realiza legrado y colocación de viruta ósea en segundo y cuarto dedos de mano izquierda (encondromas y células atípicas asociadas con hemangioma esclerosante), se concluye Síndrome de Maffucci. Posteriormente, excisión de nódulos subcutáneos en extremidades superiores (hemangioma capilar), e hipocondrio derecho (encondromas lesiones de mano izquierda e hipocondrio, hemangioma en mano derecha), desarticulación del segundo dedo a nivel metacarpo falángica de mano izquierda (condrosarcoma). Actualmente en vigilancia.

Caso 2. Femenino de 26 años. Antecedente de tumor abdominal, exostosis, nódulos subcutáneos y en mama derecha. A la exploración, tumor en mama derecha, exostosis de tibia derecha, lesión en muñeca derecha y nódulo tiroideo izquierdo. Se realiza mastectomía simple derecha y disección de axila (fibroadenoma intracanalicular y 14 ganglios negativos). Posteriormente, tiroidectomía izquierda y tumorectomía en muñeca derecha (hiperplasia nodular tiroidea y hemangioma cavernoso). Se reseca lesión en carpo de mano y codo derechos (hemangioma cavernoso y tejido sinovial con fibrosis y encondroma), se concluye Síndrome de Maffucci asociado a tumores mesenquimatosos. Acude posteriormente con tumor abdominal y malas condiciones generales, falleciendo en esta hospitalización.

Palabras Clave: Síndrome de Maffucci, Encondromas, Hemangiomas

MAFFUCCI'S SYNDROME.

DEPARTMENT OF SKIN, SOFT TISSUES AND BONE TUMORS
NATIONAL INSTITUTE OF CANCER, MEXICO.

SUMMARY

Syndrome of Maffucci is a rare, congenital disease, appears with the association of enchondromas multiple (possibility of malignant transformation in 20 to 100%), hemangiomas of soft weaves and other mesenchymatous injuries.

Case 1. Female of 33 years. It initiated with multiple nodules of predominance in superior members. To the exploration, deformity to articulate and nodules in hands, of consistency last and soft, movable, legrado is made bony and bony shaving positioning in second and fourth fingers of left hand (enchondromas and atypical cells associated with hemangioma esclerosante), concludes Syndrome of Maffucci. Later, excisión of subcutaneous nodules in superior extremities (hemangioma hair), excisión of nodules in both hands and hypocondrio straight (enchondromas injuries of left hand and hypocondrio, hemangioma in right hand). Disarticulation of the second finger at level metacarpus - falángica of left hand (condrosarcoma). At the moment in monitoring.

Case 2. Female of 26 years. Subcutaneous antecedent of abdominal tumor, exostosis, nodules and nodule in right breast. To the exploration, tumor in right breast, exostosis of right tibia, injury in right wrist and left tiroid nodule. It is made right simple mastectomía and axillary dissection (fibroadenoma to intracanalicular and 14 negative lymph nodes). Later, left tiroidectomy and lumpectomy in right wrist (hyperplasia to nodular tiroid and hemangioma cavernous). Parched injury in carpus of right hand and elbow (hemangioma cavernous and sinovial weave with fibrosis and enchondroma), concludes Syndrome of Maffucci associated to mesenchymatous tumors. It later goes with abdominal tumor and bad general conditions, passing away in this hospitalization.

Key words: Maffucci's Syndrome, Enchondromas, Hemangiomas

INTRODUCCIÓN

El Síndrome de Maffucci fue descrito por el italiano Maffucci en 1881 como una enfermedad caracterizada por encondromatosis múltiple asociada a hemangiomas de tejidos blandos, es una enfermedad congénita, sin una historia familiar, que se presenta en niños y adolescentes.^{1,2} Los encondromas son lesiones benignas frecuentes en el cartílago de huesos de manos y pies del adulto joven, entre un 60% para las manos y 71% para manos y pies juntos², raramente presentan transformación maligna. Los condrosarcomas tienen antecedentes de lesiones benignas en un 10% de los casos³, sin embargo, cuando se asocian a patologías como Síndrome de Maffucci o Enfermedad de Ollier (encondromatosis múltiple) estas lesiones pueden tener un 20% de transformación maligna y alto potencial metastásico.^{1,2,3,4,5}

El presente trabajo describe las características clínicas de dos pacientes atendidos en el instituto.

OBJETIVO

Describir las características clínicas de los pacientes con Síndrome de Maffucci y realizar la correlación con la literatura mundial.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se revisaran los casos identificados en el Departamento de Piel y Partes Blandas del Instituto Nacional de Cancerología, México, con diagnóstico de Síndrome de Maffucci. Se describirán las características clínicas de los pacientes, así como la conducta terapéutica llevada a cabo en cada caso. Se realizará la correlación con la literatura mundial descrita con respecto a la enfermedad, en una búsqueda sistematizada de los artículos publicados disponibles en la red (PubMed, Medline, Ovid, Science Direct), considerando únicamente para su evaluación aquellos que puedan aportar alguna conclusión en el manejo de la enfermedad.

RESULTADOS

Se identificaron dos pacientes del sexo femenino con Síndrome de Maffucci en los últimos 10 años en el archivo clínico del Instituto Nacional de Cancerología, México. Se describen a continuación las características clínicas de ambas pacientes y la conducta terapéutica llevada a cabo en cada una. La correlación con la literatura mundial disponible se mencionara en la discusión.

CASO CLÍNICO 1

Paciente femenino de 33 años de edad, sin antecedentes familiares para cáncer. Presenta padecimiento actual de doce años de evolución con múltiples nódulos predominantemente de miembros superiores, asintomáticos, con deformidad progresiva de articulaciones de dedos y muñecas. A la exploración física deformidad en manos por lesiones articulares y nódulos múltiples, así como en otras partes del cuerpo, de consistencia dura y blanda, móviles, con diagnóstico de encondromatosis múltiple a descartar fibromatosis. En mayo de 1988 se realiza legrado óseo y colocación de viruta de espina iliaca izquierda en segundo y cuarto dedos de mano izquierda con toma de biopsia de nódulo de muñeca izquierda. Se reportan encondromas, células atípicas asociadas con hemangioma esclerosante. Se concluye Síndrome de Maffucci.

En enero de 1990 se realiza excisión de nódulos subcutáneos en ambas extremidades superiores, reportados como hemangioma capilar. En julio de 1997 excisión de nódulos en mano derecha e izquierda, así como de hipocondrio derecho, con reporte de encondromas. La lesión de mano derecha se reporta como hemangioma.

En septiembre del 2002 se identifican cambios radiológicos (Figura 1) en segundo dedo de mano izquierda, lesión expansiva, formación de matriz condroide y múltiples trabéculas. Se decide desarticulación del segundo dedo a nivel de la articulación metacarpo falángica (Figura 2) con reporte de condrosarcoma de bajo grado de 3.5 x 3 cm. y límites quirúrgicos libres de lesión.

La paciente actualmente sin evidencia de actividad tumoral, en vigilancia semestral.

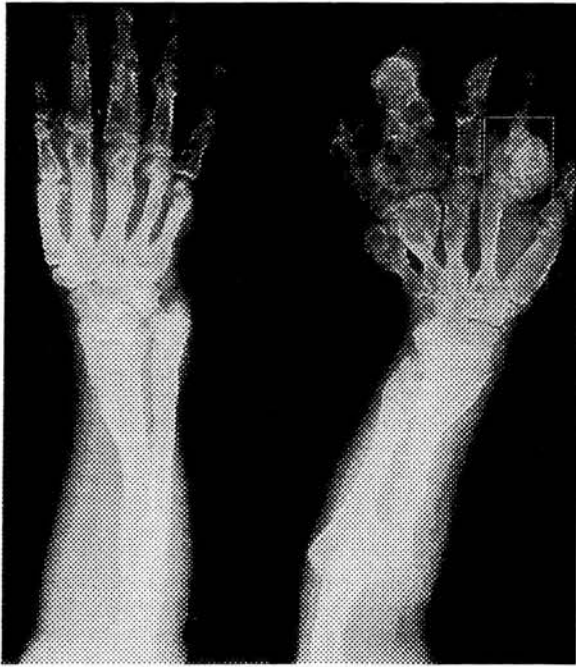


Figura 1. Lesión en falange proximal de segundo dedo de mano izquierda compatible con condrosarcoma.

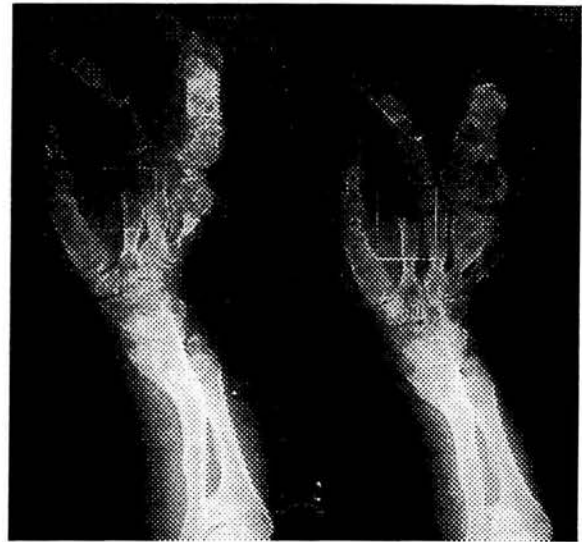


Figura 2. Control radiológico posterior a desarticulación de segundo dedo izquierdo a nivel de la articulación metacarpo falángica.

CASO CLINICO 2

Paciente femenino de 26 años de edad, sin antecedentes familiares para cáncer de mama, ovario o sarcomas. Con antecedente de resección de tumor abdominal en 1991, sin reporte histopatológico, además exostosis y nódulos subcutáneos sin tratamiento específico.

Presenta padecimiento actual de doce años de evolución con nódulo mamario derecho por lo que acude a esta institución para diagnóstico y tratamiento. A la exploración física tumor de mama derecha de 15 cm. de diámetro, exostosis de tibia derecha, lesión en muñeca del mismo lado, además nódulo tiroideo izquierdo. Se toman biopsias por aspiración con aguja fina (BAAF) de mama con reportes de tumor filodes y fibroadenoma. La telerradiografía de tórax presenta imágenes sugestivas de esclerosis ósea en tercer arco costal izquierdo. Gammagrama óseo con actividad atípica en húmero, radio, tibia y peroné derechos así como ambos fémures y peroné izquierdo, con pérdida de la articulación sacro ilíaca bilateralmente.

En agosto de 1996 se realiza mastectomía simple derecha y disección baja de axila con reporte de fibroadenoma intracanalicular y 14 ganglios con hiperplasia histiosinusoidal. En septiembre de 1996 se realiza BAAF de nódulo tiroideo que se reporta como bocio coloide, por lo que se realiza conjuntamente tiroidectomía izquierda y tumorectomía en muñeca derecha con reporte de hiperplasia nodular tiroidea y hemangioma cavernoso con trombosis focal antigua de la lesión en muñeca. En diciembre de 1996 se efectúa resección de lesión en carpo de mano y codo derechos con resultado de hemangioma cavernoso y tejido sinovial con fibrosis y encondroma. Se concluye Síndrome de Maffucci asociado a tumores mesenquimatosos. La paciente acude a seguimiento hasta 1999, dejando de asistir a la consulta por 5 años.

Ingresa a hospitalización en abril del 2004 por tumor abdominal, hidronefrosis e insuficiencia venosa superficial y profunda de miembro pélvico izquierdo, con exoftalmos evidente y múltiples lesiones en extremidades superiores e inferiores predominando en manos además y hemangiomas. Se realiza Tomografía Computada (TC) donde se encuentra afección ósea múltiple de predominio en pelvis izquierda, que afecta ambas articulaciones coxofemorales expansivas con erosión y destrucción de la cortical, con formación de múltiples trabéculas óseas, gran componente de tejidos blandos e infiltración a órganos pélvicos relacionados con condrosarcomas. Además, encondromas en tercio proximal de fémur, así como en múltiples costillas (Figura 3, 4 y 5).

La paciente presenta falla orgánica múltiple y fallece durante esta hospitalización.

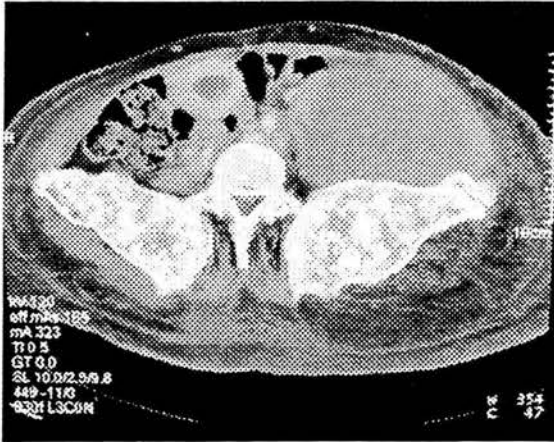


Figura 3. Encondromas en hueso iliaco y columna lumbar, con componente de tejidos blandos.

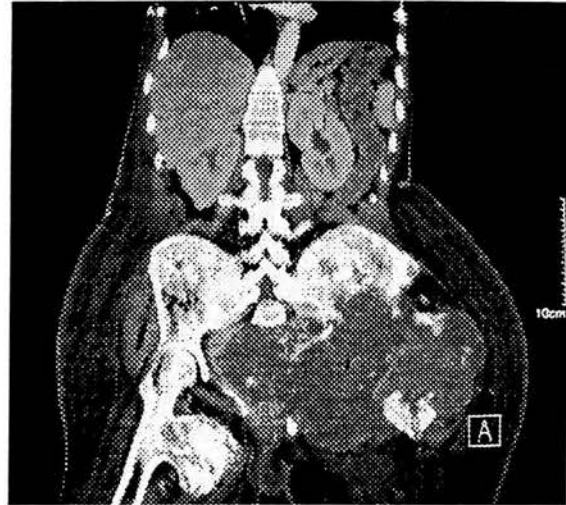


Figura 4. Destrucción de la cortical, con lesión expansiva compatible con condrosarcoma, hidronefrosis secundaria a compresión pélvica.

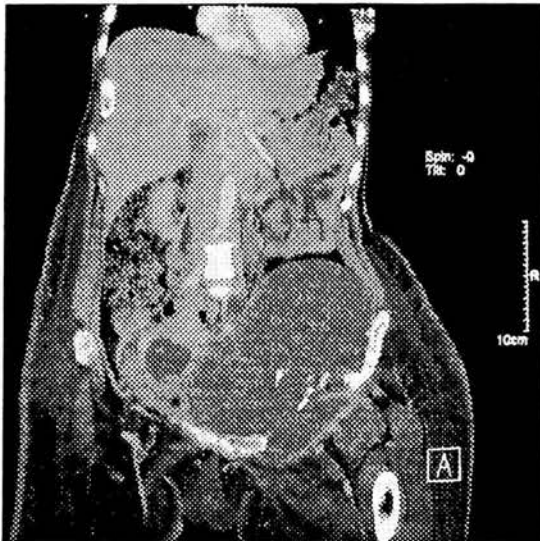


Figura 5. Desplazamiento de estructuras abdominales a expensas de lesión expansiva de huesos pélvicos.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

DISCUSIÓN

El condroma es una lesión madura de cartílago hialino, puede presentarse de dos tipos: 1) encondroma de localización central en el hueso, y 2) condroma cortical o periosteal. La lesión se caracteriza por la presencia de tejido cartilaginoso maduro benigno. La transformación maligna ocurre raramente. *Gitelis* y colaboradores reporta el 25% de las lesiones óseas benignas y el 12% de las biopsias primarias de hueso.⁴ El encondroma es más común en huesos de manos y pies (58%), es el tumor primario más común de la mano, se encuentra incidentalmente en radiografías y fracturas asociadas con encondromas. Los pacientes con encondromas múltiples (Enfermedad de Ollier) o asociados a hemangiomas de tejidos blandos (Síndrome de Maffucci) sufren transformación sarcomatosa de estas lesiones.⁴

Los encondromas son lesiones ovales, largas, localizadas en la diáfisis del hueso, lobuladas, gruesas, delimitadas, las calcificaciones pueden estar presentes, la extensión a la superficie de la corteza ósea es poco común.^{2,4} Las lesiones vasculares que se localizan en tejidos blandos son hemangiomas capilares o cavernosos asociados o no a varices y contienen frecuentemente flebolitos; aumentan de volumen en relación al crecimiento y desarrollo del organismo para detenerse espontáneamente con la madurez esquelética.^{2,11} La localización retroocular se asocia a exoftalmos y pérdida paulatina de la agudeza visual. Los encondromas además pueden encontrarse asociados al Síndrome de Maffucci con localización en el septum nasal, base del cráneo, traquea y otros sitios donde exista tejido cartilaginoso.^{1,7,15}

El condrosarcoma es un tumor maligno originado en las células productoras de cartílago, se divide de acuerdo a varias características: por grado histológico, primario o secundario, periférico o central. La más simple y que ofrece un factor pronóstico es la que lo clasifica por grado histológico. Así, se dividen en lesiones de bajo (Grado I), intermedio (grado II) y alto grado o desdiferenciado (Grado III), siendo esta última la de mayor capacidad metastásica. *Springfield* y colaboradores

consideran las dos primeras con bajo potencial metastásico e incluso como lesiones premalignas.⁶

Los condrosarcomas secundarios son raros, constituyen del 1 al 11.4% de los lesiones óseas malignas⁶, pueden surgir de osteocondromas (solitarios o hereditarios múltiples) o de encondromas múltiples (Enfermedad de Ollier o Síndrome de Maffucci), condromatosis sinovial, displasia fibrosa, exostosis cartilaginosa o después de radioterapia. Estos ocurren más frecuentemente en osteocondromas (80%), comúnmente de grado III. Las resecciones repetidas pueden favorecer la desdiferenciación. Los pacientes con Enfermedad de Ollier tienen un 25% de posibilidades para desarrollar un condrosarcoma secundario a los 40 años de edad, mientras que los pacientes con Síndrome de Maffucci tienen un 100% de posibilidad de desarrollar un tumor maligno durante su vida frecuentemente sarcoma o carcinoma.^{6,8} Rossi propone la posibilidad de transformación maligna de lesiones vasculares benignas.¹² En pacientes con Síndrome de Maffucci los encondromas sufren transformación sarcomatosa en condrosarcomas grado III, con alto potencial metastásico y pobre pronóstico, esto explica la transformación de células fusiformes de los hemangiomas en angiosarcomas, aun así no se excluye la posibilidad de angiosarcomas de *novo* en estos pacientes.^{8, 12} El pulmón es el sitio mas común de metástasis para el condrosarcoma secundario y el grado III.⁸

Las radiografías simples apoyan el diagnóstico en la mayoría de los casos, y son útiles en la valoración inicial de los condrosarcomas secundarios. La TC es superior que la resonancia magnética (RM) para valorar la formación de matriz ósea y su relación con los tejidos blandos, mientras que la RM es superior que la TC para valorar extensión a los tejidos blandos. Sin embargo, ambas se usan para valorar relación con estructuras neurovasculares y características anatómicas con fines quirúrgicos.^{8,9}

Para los encondromas el diagnóstico diferencial incluye: carcinomas epidermoides de las falanges distales, displasia fibrosa, fibroma no osificante, quiste óseo simple, condroblastoma, fibroma condromixoide o infarto óseo. En

ocasiones las imágenes radiográficas no son suficientes y se requieren biopsia ósea.⁴

El tratamiento de los condrosarcomas es quirúrgico ya que estas lesiones responden muy poco a la quimioterapia y radioterapia. El principal factor pronóstico es el grado histológico, así que en pacientes con grado I se benefician de resección completa únicamente, mientras que pacientes con grado II y III no se ha podido estimar adecuadamente sobrevida con resecciones completas. Los reportes de la Clínica Mayo y del Instituto de Rizzoli en Bolonia demuestran una sobrevida a 10 años del 80% para tumores de grado I y 31% para grado III. No ha habido beneficios demostrables en pacientes tratados con radioterapia o quimioterapia.^{6,8}

Las lesiones vasculares se tratan con resección quirúrgica e inclusive con terapia endovascular y embolización con adecuados resultados.¹¹

Se ha asociado el Síndrome de Maffucci a otras alteraciones. Manifestaciones neurológicas propias del síndrome como encondroma de base de cráneo, condrosarcomas de base de cráneo o aneurismas intracraneales^{1,13}, Síndrome del Nevo Azul¹⁴, neoplasias cartilaginosas de la traquea¹⁵, tumores benignos de la mama y tumor filodes¹⁶, lesiones mesenquimatosas del ovario así como lesiones de la granulosa^{17,18} e incluso hay casos asociados a carcinomas de páncreas.¹⁹

CONCLUSIÓN

El Síndrome de Maffucci es una entidad rara, que dentro de las encondromatosis se asocia más frecuentemente con transformación maligna y en algunos casos a otras lesiones neoplásicas benignas y malignas. La metodología diagnóstica incluye la exploración física, apoyado en otros estudios de gabinete para valorar la extensión de la enfermedad. Sin embargo, el seguimiento de estos pacientes deberá ser estricto, aunque no hay nada establecido debido a la poca frecuencia de la enfermedad, este deberá incluir un examen clínico completo y estudios de gabinete determinados a identificar lesiones en otros órganos de origen mesenquimatoso y extramesenquimatoso. El tratamiento incluye la resección quirúrgica de lesiones con transformación maligna, seguimiento de lesiones vasculares con embolización y en caso necesario resección quirúrgica. Para las otras lesiones asociadas al síndrome se deberá establecer la terapia convencional.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ramina R, Neto MC, Meneses MS y Pedrozo AA. Maffucci's Syndrome associated with a cranial base chondrosarcoma: Case report and Literature review. *Neurosurgery*. 1997; 41 (1): 269-272
2. Sepúlveda VM. Tumores óseos. Monterrey: La Prensa Médica Mexicana, 1985.
3. Malawer MM, Link MP y Donaldson SS. Sarcomas of bone. En: DeVita VT, Hellman S & Rosenberg SA, ed. *Cancer. Principles & practice of oncology*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001: 1891-1935.
4. Gitelis S, Wilkins R y Conrad EU. Benign bone tumors. *J Bone Joint Surg Am*. 1995; 77-A (11): 1756-1782.
5. Patil S, De Silva MVC, Crossan J y Reid R. Chondrosarcoma of small bones of the hand. *Journal of Hand Surgery*. 2003; 28B (6): 602-608.
6. Springfield DS, Gebhardt MC y McGuire MH. Chondrosarcoma: a review. *J Bone Joint Surg Am*. 1996; 78-A (1): 141-149.
7. Hyde GE, Yarrington CT, y Chu FW. Case report. Head and neck manifestations of Maffucci's syndrome: Chondrosarcoma of the nasal septum. *Am J Otolaryngology*. 1995; 16 (4): 272-275.
8. Ahmed AR, Tan TS, Unni KK, Collins MS, Wenger DE y Sim FH. Secondary Chondrosarcoma in Osteochondroma: Report of 107 Patients. *Clinical Orthopedics & Related Research*. 2003; 1(411): 193-206.
9. De Beuckeleer LH, De Schepper AM Ramon F y Somville J. Magnetic resonance imaging of cartilaginous tumors: a retrospective study of 79 patients. *Eur J Radiology*. 1995; 21(1): 34-40.
10. Fernandez-Aguilar, Sergio M.D.; Fayt, Isabelle M.D.; Noel, Jean-Christopher Ph.D. Spindle Cell Vulvar Hemangiomas Associated With Enchondromatosis: A Rare Variant of Maffucci's Syndrome. *International J Gynecol Pathol*. 2004; 23(1):68-70.

11. Burrows, Patricia E. MD; Mason, Keira P. MD Percutaneous Treatment of Low Flow Vascular Malformations. *J Vasc Interventional Radiology*. 2004; 15(5):431-445.
12. Rossi S, Fletcher CD. Angiosarcoma Arising in Hemangioma/Vascular Malformation: Report of Four Cases and Review of the Literature. *Am J Surg Pathol*. 2002; 26(10):1319-1329.
13. Chakraborty S, Tamaki N, Komdoh T, Kojima N, Kamikawa H y Matsumoto S. Maffucci's syndrome associated with intracranial enchondroma and aneurysm: Case report. *Surg Neurology*. 1991; 36(3): 216-220.
14. Nahm WK, Moise S, Eichenfield LF, Paller AS, Nathanson L, Malicki DM y Friedlander SF. Venous malformations in blue rubber bleb nevus syndrome: variable onset of presentation. *J Am Acad Dermatol* 2004; 50: S101-106.
15. Moore BA, Rutter MJ, Fracs B; Cotton R, Werkhaven J. Maffucci's syndrome and cartilaginous neoplasms of the trachea. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2003; 128(4): 583-586.
16. Fernández-Aguilar S, Buxant F y Noël JC. Case report. Benign phyllodes tumor associated with Maffucci's syndrome. *Breast*. 2004; 13(3): 247-249.
17. Hachi H, Othmany A, Douayri A, Bouchikhi C, Tijami F, Laâlou L, Chami M, Boughtab A, Jalil A, Benjelloun S, Ahyoud F, Kettani F y Souadka A. Cas clinique. Association d'une tumeur ovarienne de la granulose juvenile à un syndrome de Maffucci. Ovarian juvenile granulosa cell tumor associated with Maffucci's syndrome. *Gynécologie Obstétrique Fertilité*. 2002 ; 30(9): 692-695.
18. Christman JE y Ballon SC. Case report. Ovarian fibrosarcoma associated with Maffucci's syndrome. *Gynecol Oncology*. 1990; 37(2): 190-291
19. Johnson JL, Webster JR y Sippy HI. Maffucci's syndrome (dyschondroplasia with hemangiomas). *Am J Medicine*. 1960; 28(5): 864-866.