



Año 1916

Núm. 3060

UNIVERSIDAD NACIONAL DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO

DE LAS

= HEMOLISINAS =

TESIS

PRESENTADA PARA OPTAR AL TÍTULO DE DOCTOR EN MEDICINA

POR

ANTONIO B. RIBEYROLLES

EX-PRACTICANTE MENOR Y MAYOR DEL HOSPITAL RIVADAVIA
1913 - 16

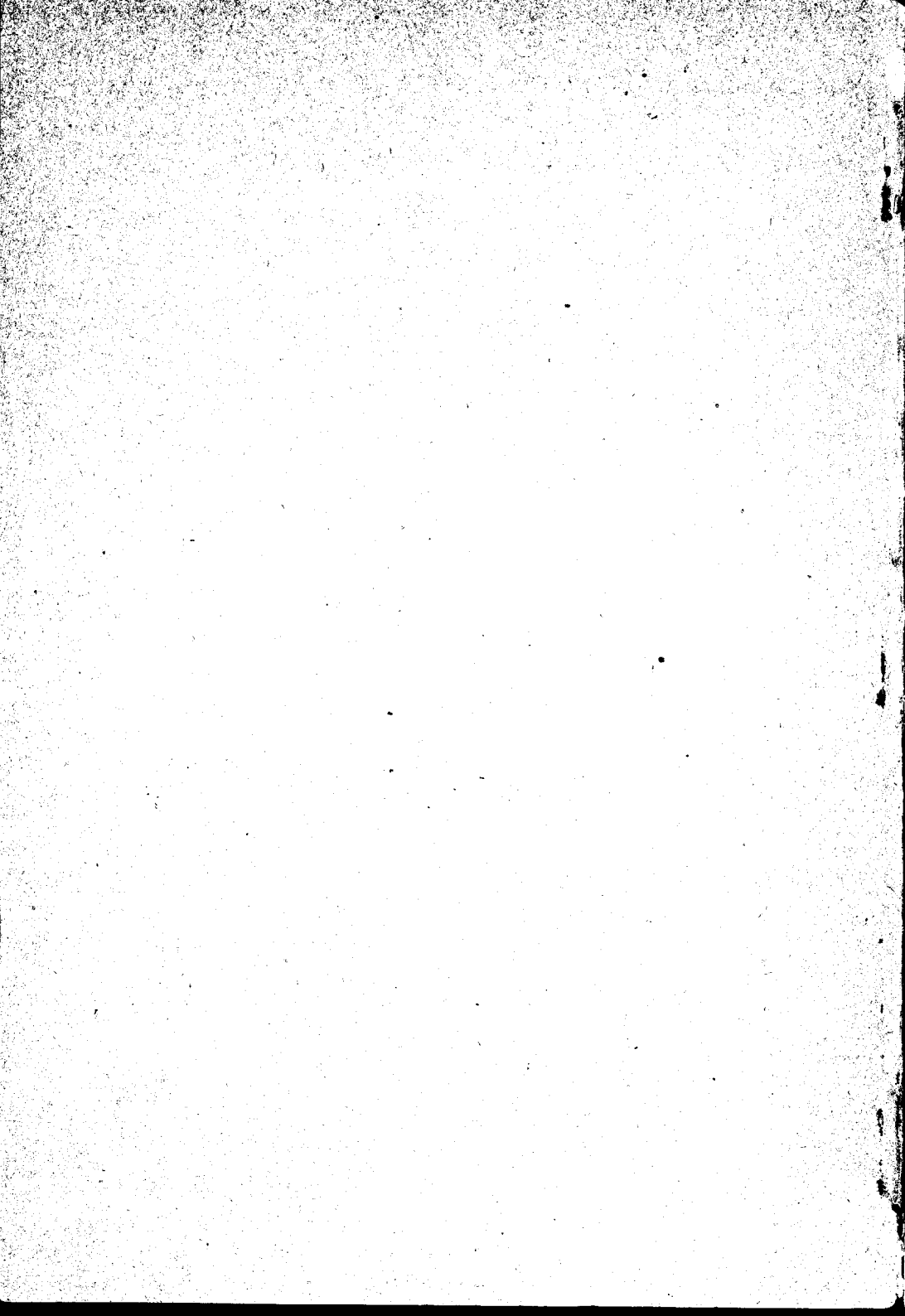


"LAS CIENCIAS"

Librería y Casa Editora de A. GUIDI BUFFARINI

CÓRDOBA 1877 - BUENOS AIRES

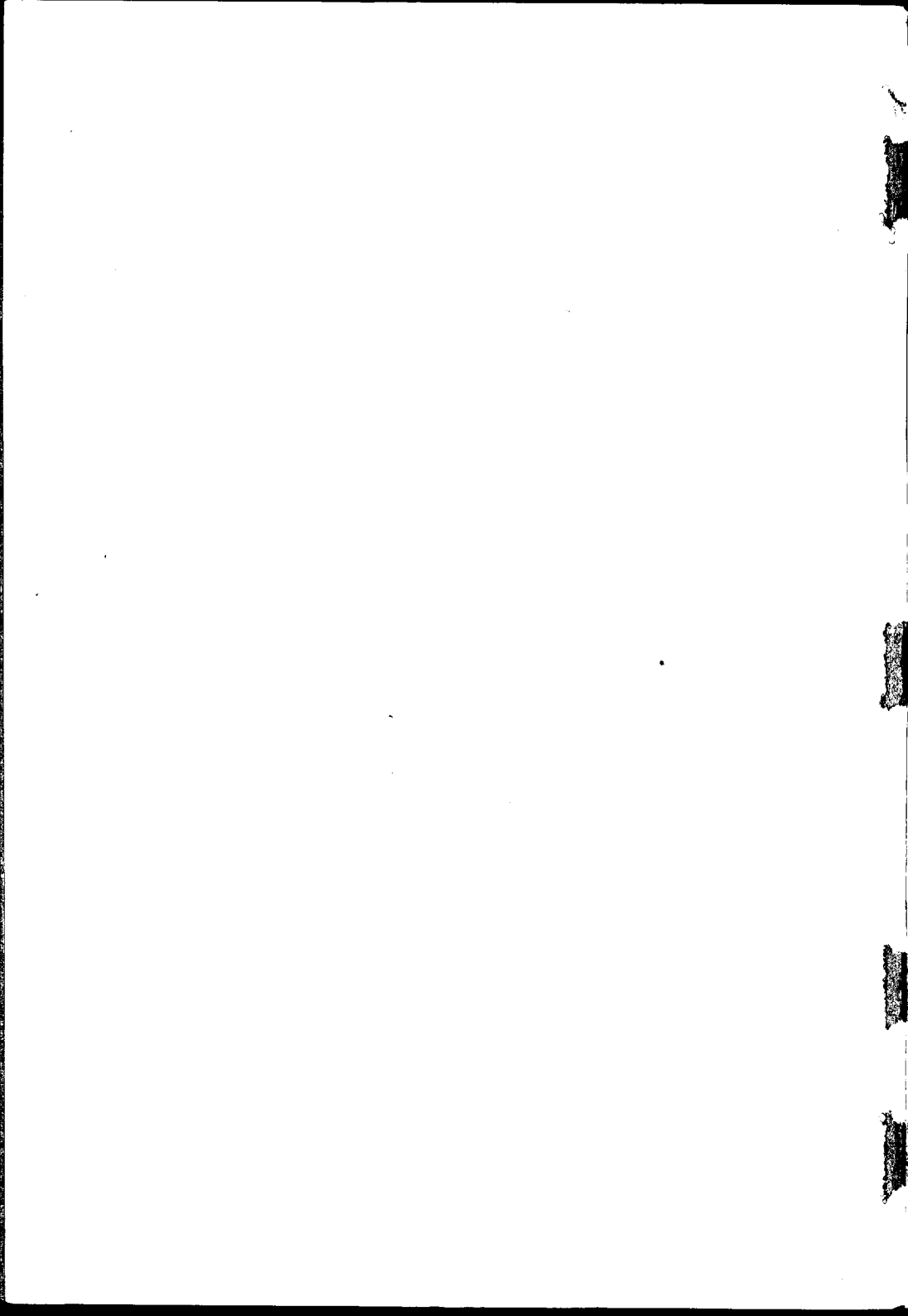
Mr. B. 9518



CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO

DE LAS

=HEMOLISINAS=



Año 1916

Núm. 3060

UNIVERSIDAD NACIONAL DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO

DE LAS

=HEMOLISINAS=

TESIS

PRESENTADA PARA OPTAR AL TÍTULO DE DOCTOR EN MEDICINA

POR

ANTONIO B. RIBEYROLLES

EX-PRACTICANTE MENOR Y MAYOR DEL HOSPITAL RIVADAVIA
1913 - 16



LIBRERÍA "LAS CIENCIAS"
CASA EDITORA E IMPRENTA DE A. GUIDI BUFFARINI
1877, CÓRDOBA, 1877 - BUENOS AIRES

La Facultad no se hace solidaria de las
opiniones vertidas en las tesis.

Artículo 162 del R. de la F.

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ACADEMIA DE MEDICINA

Presidente

DR. D. ENRIQUE BAZTERRICA

Vice-Presidente

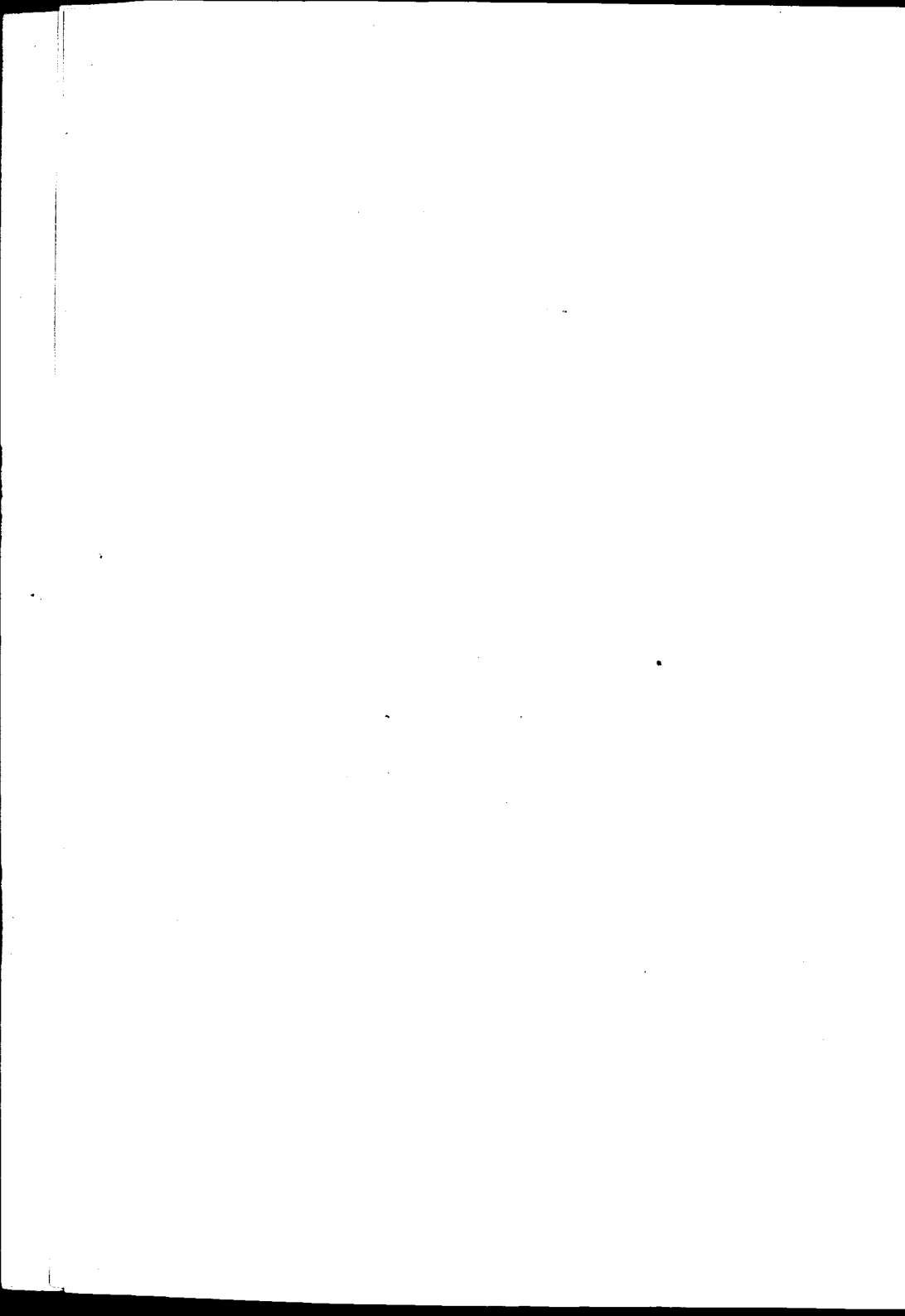
DR. D. JOSÉ PENNA

Miembros titulares

1. » » EUFEMIO UBALLES
2. » » PEDRO N. ARATA
3. » » ROBERTO WERNICKE
4. » » PEDRO LAGLEYZE
5. » » JOSÉ PENNA
6. » » LUIS GÜEMES
7. » » ELISEO CÁNTÓN
8. » » ANTONIO C. GANDOLFO
9. » » ENRIQUE BAZTERRICA
10. » » DANIEL J. CRANWELL
11. » » HORACIO G. PIÑERO
12. » » JUAN A. BOERI
13. » » ANGEL GALLARDO
14. » » CARLOS MALBRAN
15. » » M. HERRERA VEGAS
16. » » ANGEL M. CENTENO
17. » » FRANCISCO A. SICARDI
18. » » DIÓGENES DECOUD
19. » » BALDOMERO SOMMER
20. » » DESIDERIO F. DAVEL
21. » » GREGORIO ARAOZ ALFARO
22. » » DOMINGO CABRED
23. » » ABEL AYERZA
24. » » EDUARDO OBEJERO

Secretarios

DR. D. DANIEL J. CRANWELL
» MARCELINO HERRERA VEGAS

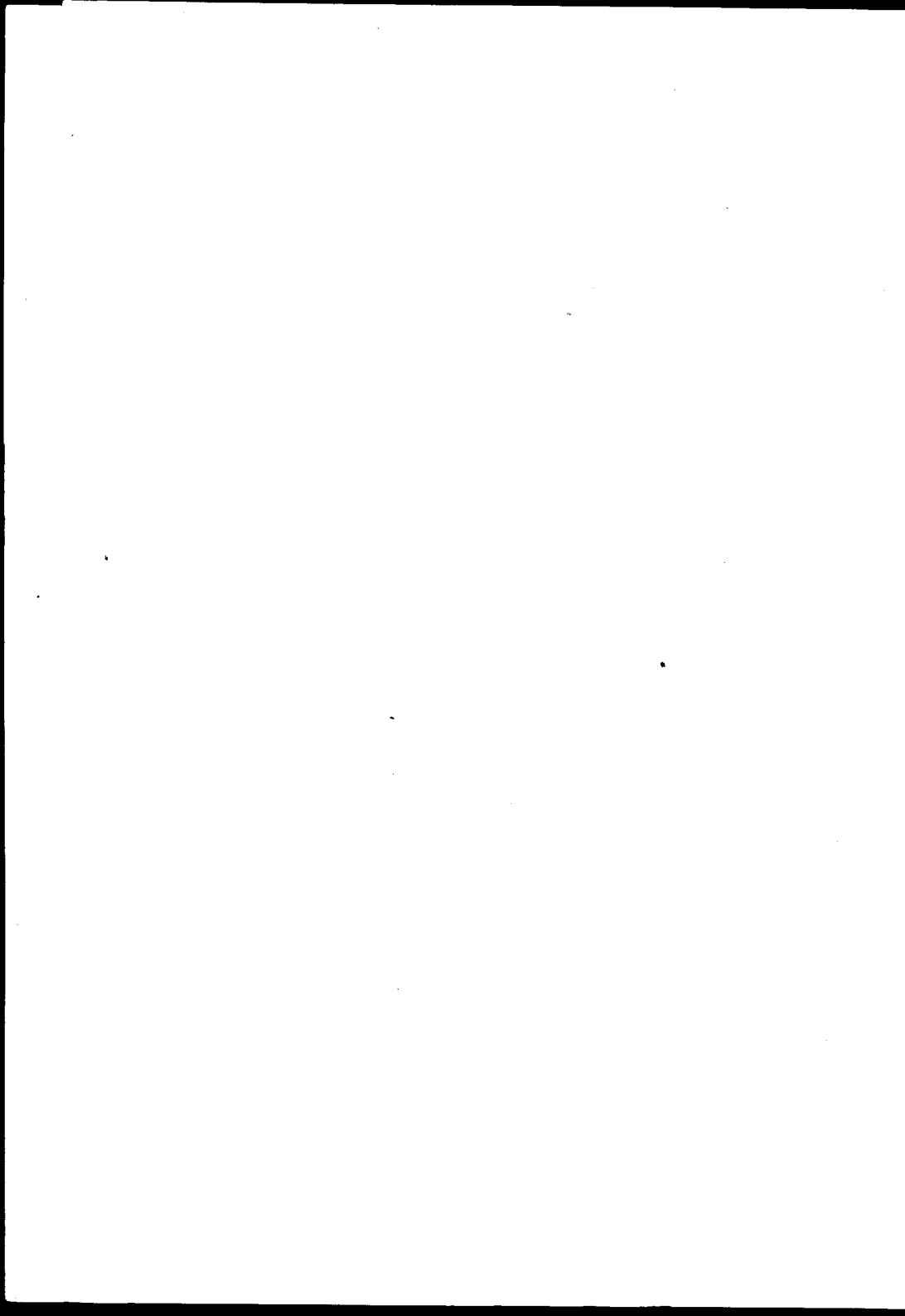


FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

ACADEMIA DE MEDICINA

Miembros Honorarios

1. DR. D. TELÉMACO SUSINI
2. » » EMILIO R. CONI
3. » » OLHINTO DE MAGALHAES
4. » » FERNANDO WIDAL
5. » » OSVALDO CRUZ



FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

Decano

DR. D. E. BAZTERRICA

Vice Decano

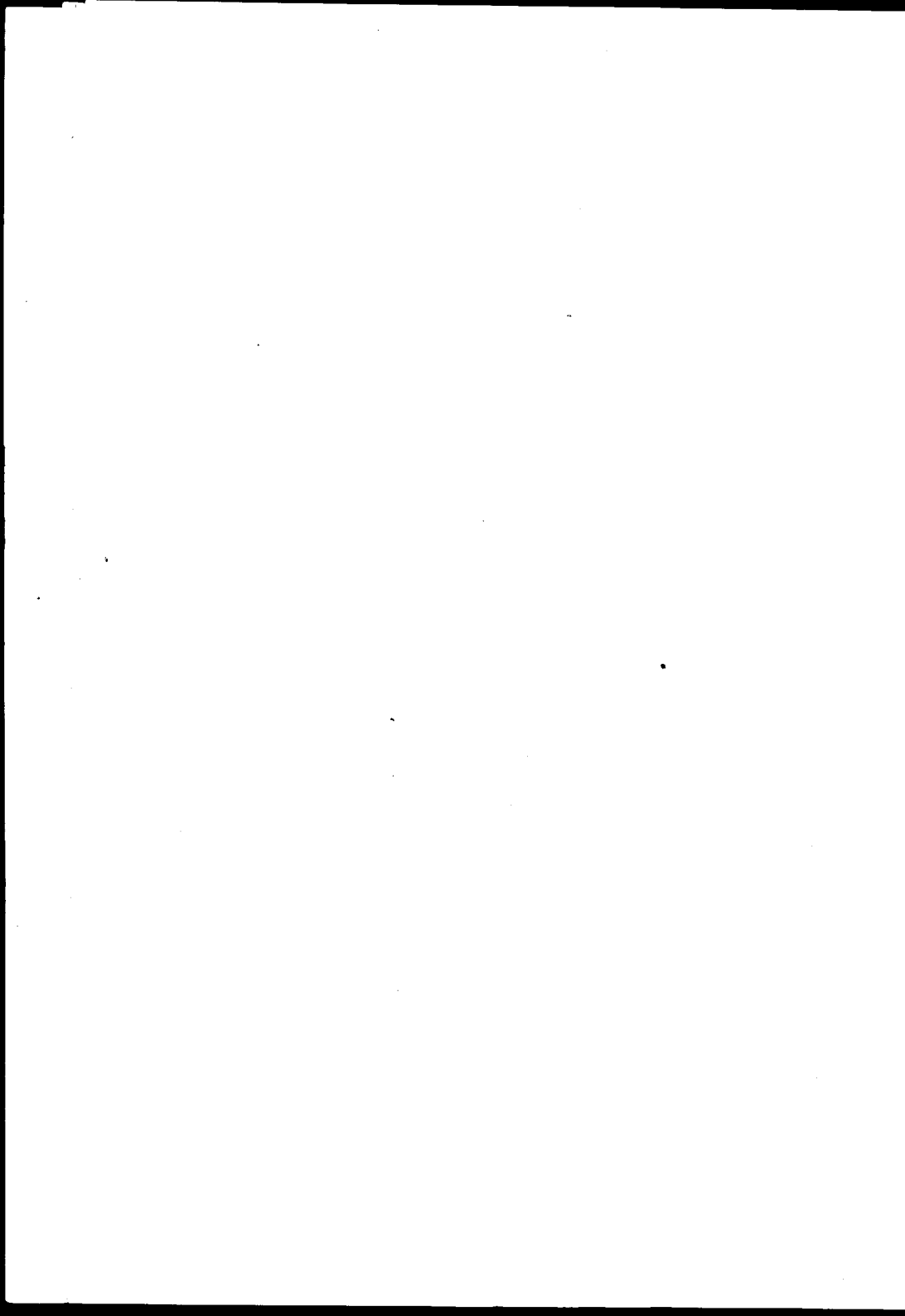
DR. CARLOS MALBRAN

Consejeros

DR. D. LUIS GÓMEZ
» » ENRIQUE BAZTERRICA
» » ENRIQUE ZÁRATE
» » PEDRO LACAYRA
» » ELISEO CANTÓN
» » ANGEL M. CENTENO
» » DOMINGO CABRED
» » MARCIAL V. QUIROGA
» » JOSÉ ARCE
» » ABEL AYERZA
» » EUFEMIO UBALLES (con lic.)
» » DANIEL J. CRANWELL
» » CARLOS MALBRAN
» » JOSÉ F. MOLINARI
» » MIGUEL PUIGGARI
» » ANTONIO C. GANDOLFO (Suplente)

Secretarios

DR. P. CASTRO ESCALADA (Consejo directivo)
» » JUAN A. GABASTOU (Escuela de Medicina)



ESCUELA DE MEDICINA

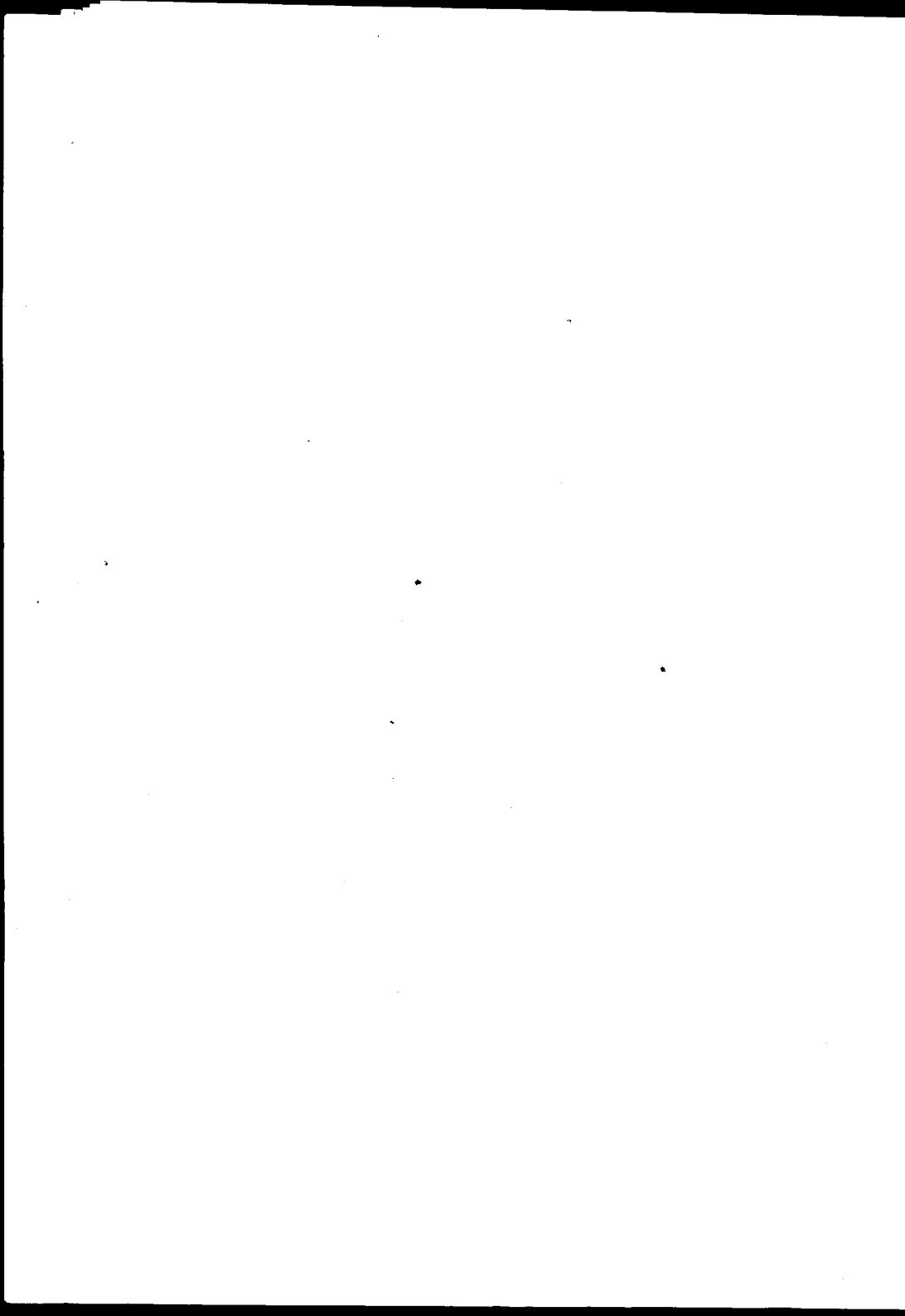
PROFESORES HONORARIOS

- DR. ROBERTO WERNICKE
* JUVENCIO Z. ARCE
* PEDRO N. ARATA
* FRANCISCO DE VEYGA
* ELISEO CANTON
* JUAN A. BOERI
* FRANCISCO A. SICARDI



ESCUELA DE MEDICINA

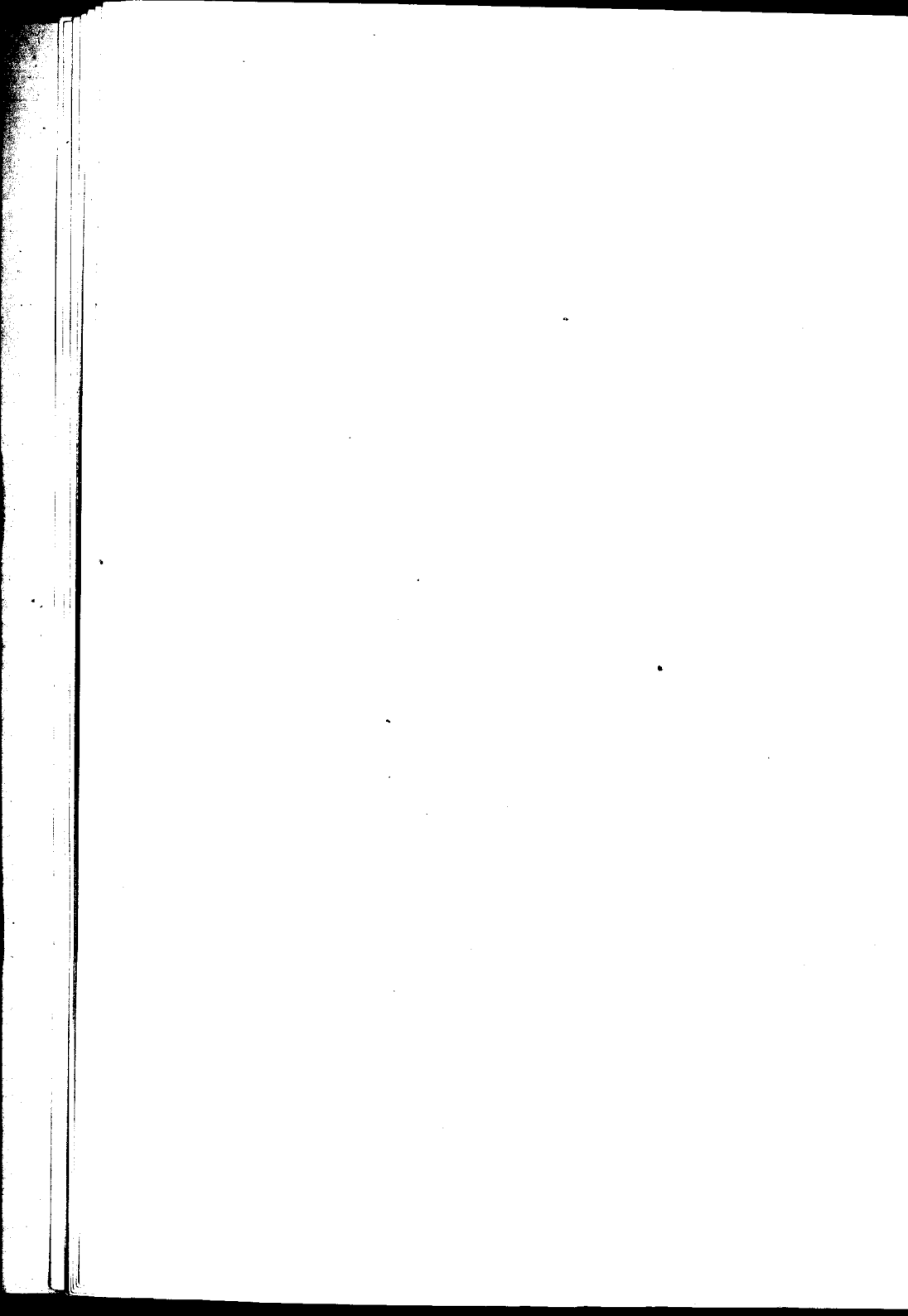
Asignaturas	Catedráticos Titulares
Zoología Médica.....	Dr. PEDRO LACAVERA
Botánica Médica.....	» LUCIO DURAÑONA
Anatomía Descriptiva.....	» RICARDO S. GÓMEZ
Anatomía Descriptiva.....	» R. SARMIENTO LASPIUR
Anatomía descriptiva.....	» JOAQUIN LOPEZ FIGUEROA
Anatomía descriptiva.....	» PEDRO BELOU
Química Médica.....	» ATANASIO QUIROGA
Histología.....	» RODOLFO DE GAINZA
Física Médica.....	» ALFREDO LANARI
Fisiología General y Humana.....	» HORACIO G. PIÑERO
Bacteriología.....	» CARLOS MALBRÁN
Química Médica y Biológica.....	» PEDRO J. PANDO
Higiene Pública y Privada.....	» RICARDO SCHATZ
Semiología y ejercicios clínicos.....	{ » GREGORIO ARAOZ ALFARO
	{ » DAVID SPERONI
Anatomía Topográfica.....	» AVELINO GUTIERREZ
Anatomía Patológica.....	» TELEMACO SUSINI
Materia Médica y Terapéutica.....	» JUSTINIANO LEDESMA
Patología Externa.....	» DANIEL J. CRANWELL
Medicina Operatoria.....	» LEANDRO VALLE
Clínica Dermato-Sifilográfica.....	» BALDOMERO SOMMER
» Génito-urinarias.....	» PEDRO BENEDIT
Toxicología Experimental.....	» JUAN B. SEÑORANS
Clínica Epidemiológica.....	» JOSE PENNA
» Oto-rino-laringológica.....	» EDUARDO OBEJERO
Patología Interna.....	» MARCIAL V. QUIROGA
Clínica Oftalmológica.....	» PEDRO LAGLEYZE
» Médica.....	» LUIS GUEMES
» Médica.....	» LUIS AGOTE
» Médica.....	» IGNACIO ALLENDE
» Médica.....	» ABEL AYERZA
» Quirúrgica.....	» PASCUAL PALMA
» Quirúrgica.....	» DIÓGENES DECOUD
» Quirúrgica.....	{ » ANTONIO C. GANDOLFO
	{ » MARCELO T. VIÑAS
» Neurológica.....	» JOSÉ A. ESTEVES
» Psiquiátrica.....	» DOMINGO CABRED
» Obstétrica.....	» ENRIQUE ZARATE
» Obstétrica.....	» SAMUEL MOLINA
» Pediátrica.....	» ÁNGEL M. CENTENO
Medicina Legal.....	» DOMINGO S. CAVIA
Clínica Ginecológica.....	» ENRIQUE BAZTERRICA



ESCUELA DE MEDICINA

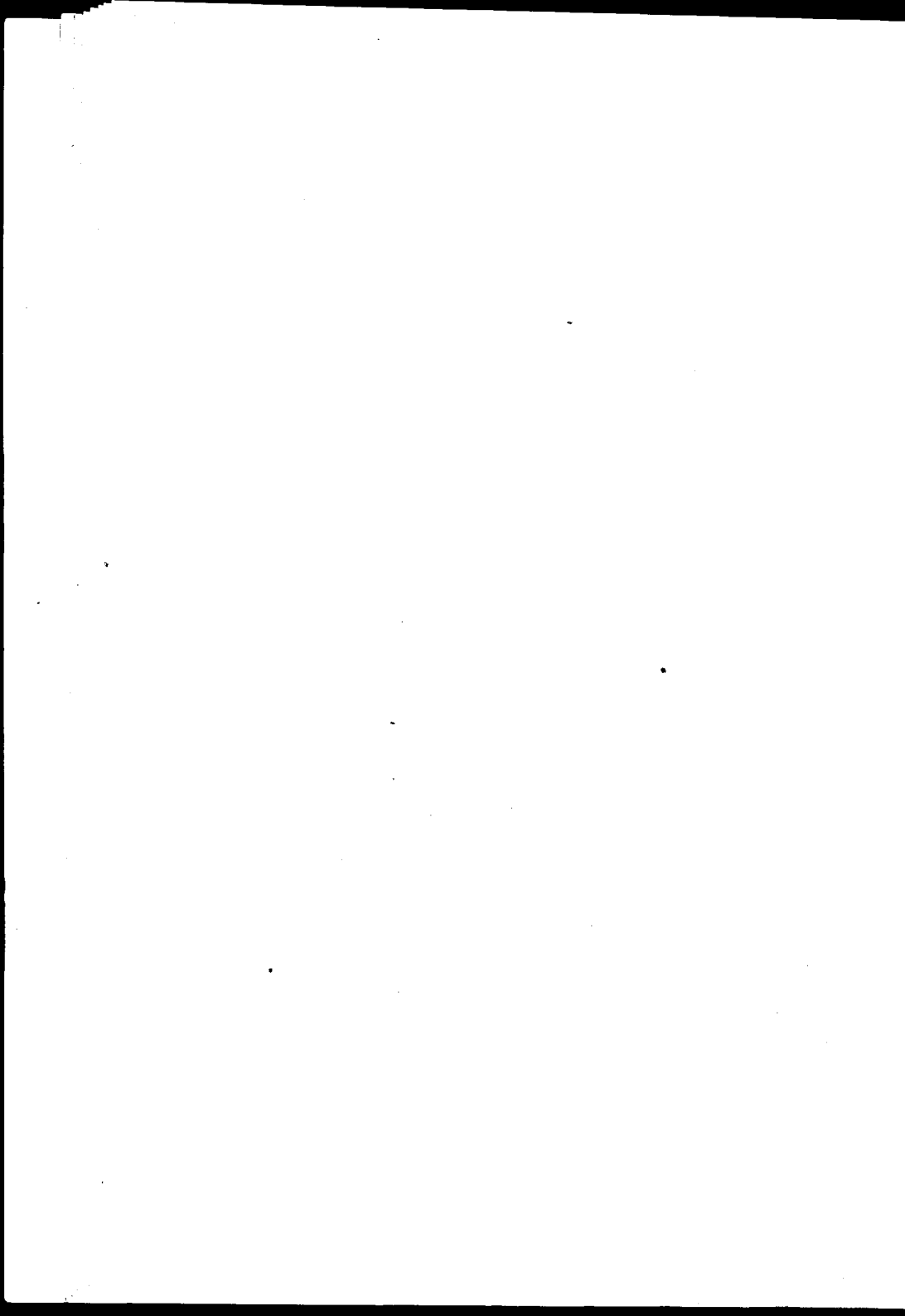
PROFESORES EXTRAORDINARIOS

Asignaturas	Catedráticos extraordinarios
Zoología médica.....	DR. DANIEL J. GREENWAY
Histología.....	„ JULIO G. FERNANDEZ
Física Médica.....	„ JEAN JOSE GALLIANO
Bacteriología.....	„ JUAN CARLOS DELFINO
	„ LEOPOLDO URIARTE
Anatomía Patológica.....	„ JOSÉ BADIA
Clinica Ginecológica.....	„ JOSÉ F. MOLINARI
Clinica Médica.....	„ PATRICIO FLEMING
Clinica Dermato-sifiligráfica.....	„ MAXIMILIANO ABERASTURY
Clinica Neurológica.....	{ „ JOSÉ R. SEMPRUN
	{ „ MARIANO ALURRALDE
Clinica Pediátrica.....	„ BENJAMIN T. SOLARI
Clinica Psiquiátrica.....	{ „ ANTONIO F. PIÑERO
	{ „ MANUEL A. SANTAS
Clinica Quirúrgica.....	„ FRANCISCO LLOBET
Clinica Quirúrgica.....	„ MARCELINO HERRERA VEGAS
Patología interna.....	„ RICARDO COLON
Clinica oto-rino-laringológica.....	„ ELISEO V. SEGURA
„ Psiquiátrica.....	„ JOSÉ T. BORDA



ESCUELA DE MEDICINA

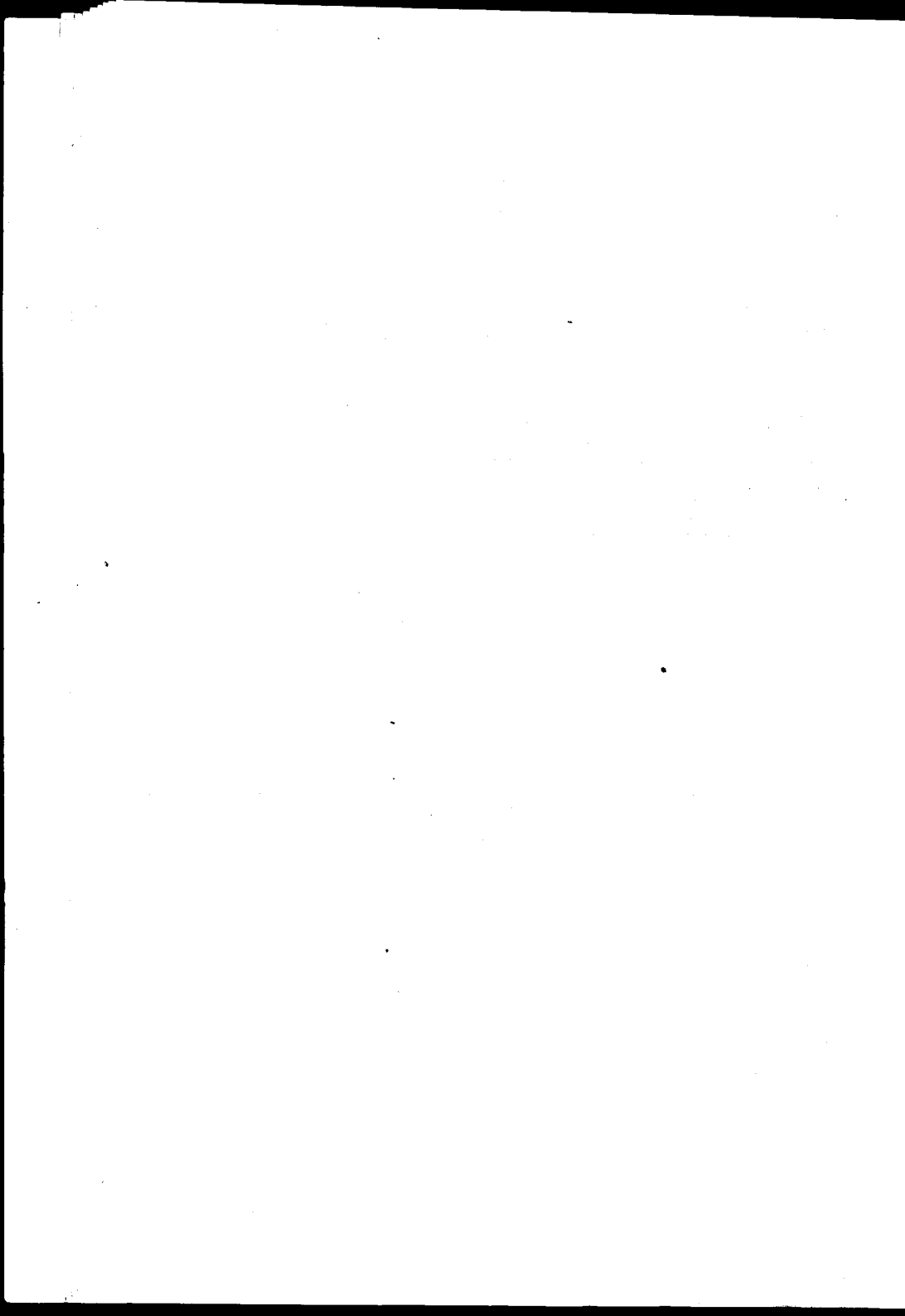
Asignaturas	Catedráticos sustitutos
Botánica Médica.....	DR. RODOLFO ENRIQUEZ
Zoología Médica.....	GUILLERMO SEEBER
Anatomía Descriptiva.....	SILVIO E. PARODI
Fisiología general y humana.....	EUGENIO GALLI
Bacteriología.....	FRANK L. SOLER
Química Biológica.....	BERNARDO HOUSSAY
Higiene Médica.....	RODOLFO RIVAROLA
Semelología y ejercicios clínicos.....	ALOIS BACHMANN
Anat. Patológica.....	GERMAN ANSCHUTZ
Materia Médica y Terapia.....	BENJAMIN GALARZE
Medicina Operatoria.....	FELIPE JUSTO
Patología externa.....	MANUEL V. CARBONELL
Clinica Dermato-sifilográfica.....	CARLOS BONORINO UDAONDO
» Genito-urinaria.....	ALFREDO VITON
» Epidemiológica.....	JOAQUIN LLAMBIAS
» Oftalmológica.....	ANGEL H. ROFFO
» Oto-rino-laringológica.....	JOSE MORENO
Patología interna.....	ENRIQUE FINOCCHIETTO
Clinica Quirúrgica.....	CARLOS ROBERTSON
» Médica.....	FRANCISCO P. CASTRO
» Pediátrica.....	CASTELFORT LUGONES
» Ginecológica.....	NICOLAS V. GRECO
» Obstétrica.....	PEDRO L. BALIÑA
Medicina legal.....	BERNARDINO MARAINI
	JOAQUIN NIN POSADAS
	FERNANDO R. TORRES
	ENRIQUE B. DEMARIA
	ADOLFO NOCETTI
	JUAN DE LA CRUZ CORREA
	MARTIN CASTRO ESCALADA
	PEDRO LABAQUI
	LEONIDAS JORGE FACIO
	PABLO M. BARILARO
	EDUARDO MARINO
	JOSE ARCE
	ARMANDO R. MAROTTA
	LUIS A. TAMINI
	MIGUEL SUSSINI
	ROBERTO SOLÉ
	PEDRO CHITRO
	JOSE M. JORGE (hijo)
	OSCAR COPELLO
	ADOLFO F. LANDIVAR
	JUAN JOSE VITÓN
	PABLO J. MORSAINE
	RAFAEL A. BULLRICH
	IGNACIO IMAZ
	PEDRO ESCUDERO
	MARIANO R. CASTEX
	PEDRO J. GARCIA
	JOSE DESTEFANO
	JUAN R. GOYENA
	MAMERTO ACUÑA
	GENARO SISTO
	PEDRO DE ELIZALDE
	FERNANDO SCHWEIZER
	JUAN CARLOS NAVARRO
	JAIME SALVADOR
	TORIBIO PICCARDO
	CARLOS R. CIRIO
	OSVALDO L. BOTTARO
	ARTURO ENRIQUEZ
	A. PERALTA RAMOS
	FAUSTINO J. TRONGE
	JUAN B. GONZALEZ
	JUAN C. RISSO DOMINGUEZ
	JUAN A. GABASTOU
	JOAQUIN V. GNECCO
	JAVIER BRANDAN
	ANTONIO PODESTA



ESCUELA DE FARMACIA

Asignaturas	Catedráticos titulares
Zoología general: Anatomía, Fisiología comparada.....	DR. ANGEL GALLARDO
Botánica y Mineralogía.....	» ADOLFO MUJICA
Química inorgánica aplicada.....	» MIGUEL PUIGGARI
Química orgánica aplicada.....	» FRANCISCO C. BARRAZA
Farmacognosia y posología razonadas...	SR. JUAN A. DOMINGUEZ
Física Farmacéutica.....	Dr. JULIO J. GATTI
Química Analítica y Toxicológica (primer curso).....	» FRANCISCO P. LAVALLE
Técnica farmacéutica.....	» J. MANUEL IRIZAR
Química analítica y toxicológica (segundo curso) y ensayo y determinación de drogas.....	» FRANCISCO P. LAVALLE
Higiene, legislación y ética farmacéuticas.....	» RICARDO SCHATZ

Asignaturas	Catedráticos sustitutos
Técnica farmacéutica.....	} SR. RICARDO ROCCATAGLIATA " PASCUAL CORTI
Farmacognosia y posología razonadas....	
Física farmacéutica.....	" OSCAR MIALOCK
Química orgánica.....	DR. TOMÁS J. RUMI
Química analítica.....	} SR. PEDRO J. MESIGOS " LUIS GUGLIALMELLI
Química inorgánica.....	
	DR. JUAN A. SANCHEZ
	" ANGEL SABATINI

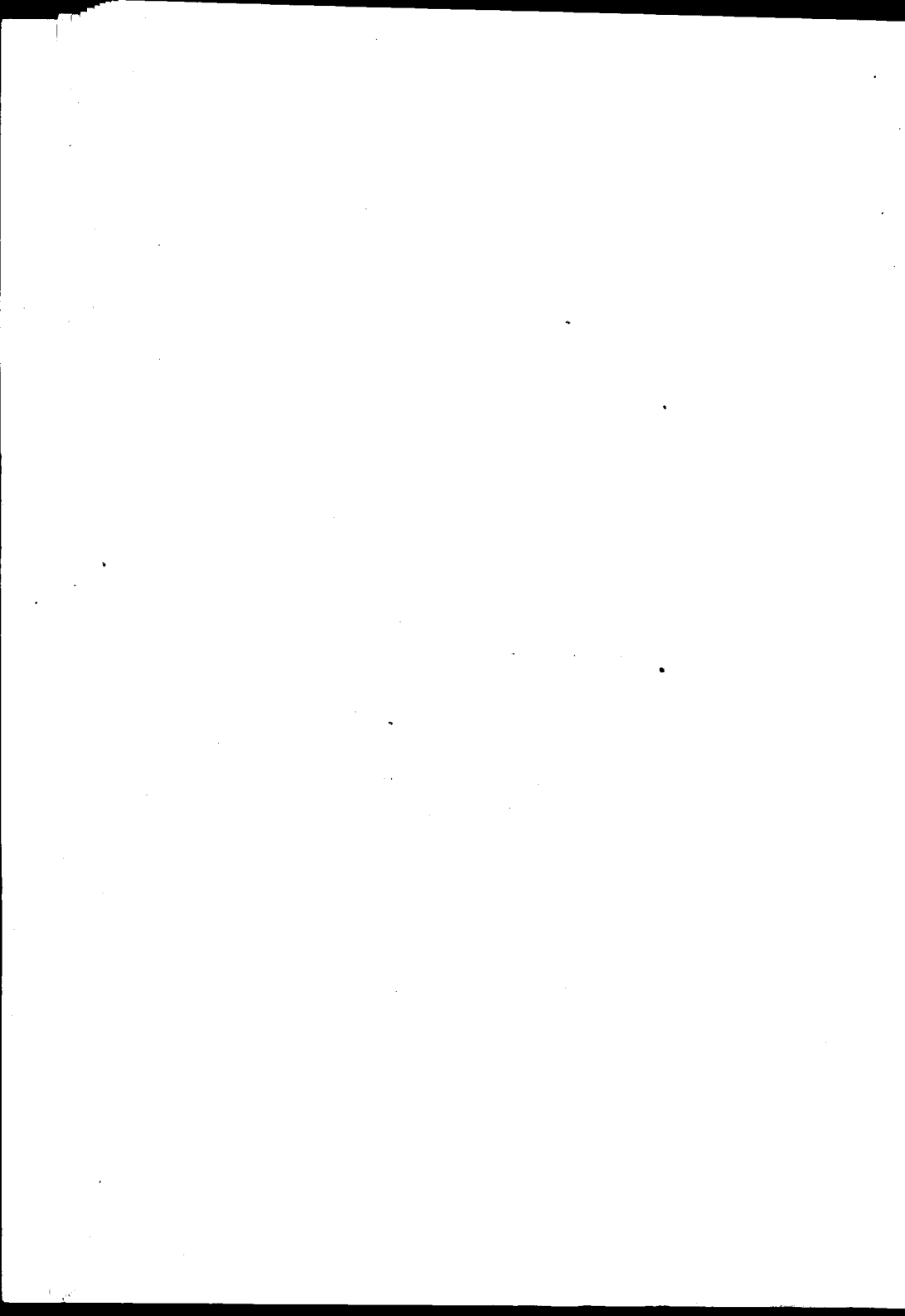


ESCUELA DE ODONTOLOGIA

Asignaturas	Catedráticos titulares
1er. año.....	DR. RODOLFO ERAUZQUIN
2º. año.....	* LEON PEREYRA
3er. año.....	* N. ETCHEPAREBORDA
Protesis Dental.....	Sr. ANTONIO J. GUARDO

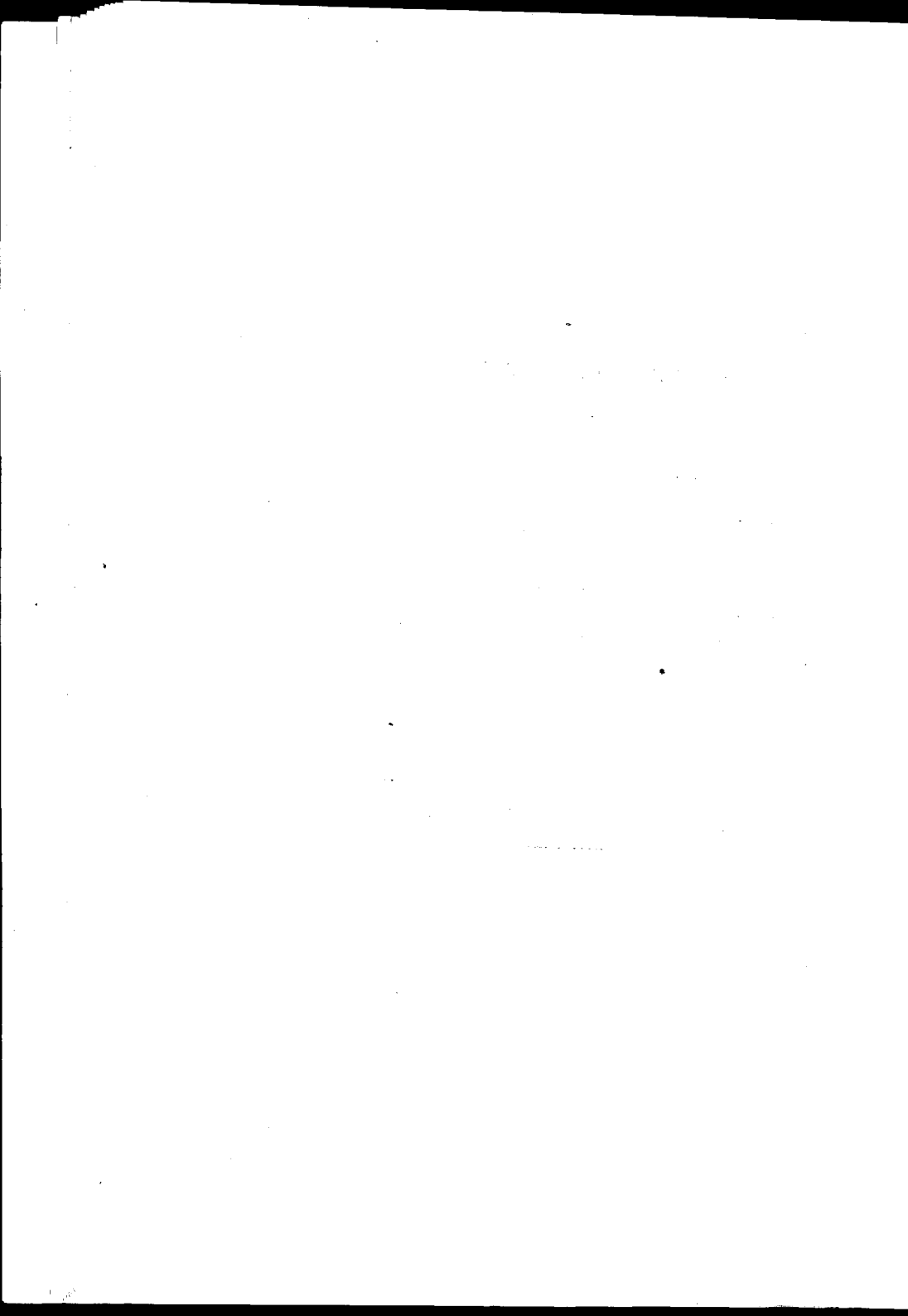
Catedráticos suplentes

DR. ALEJANDRO CABANNE
,, TOMÁS S. VARELA (2º año)
,, JUAN U. CARREA (Protesis)



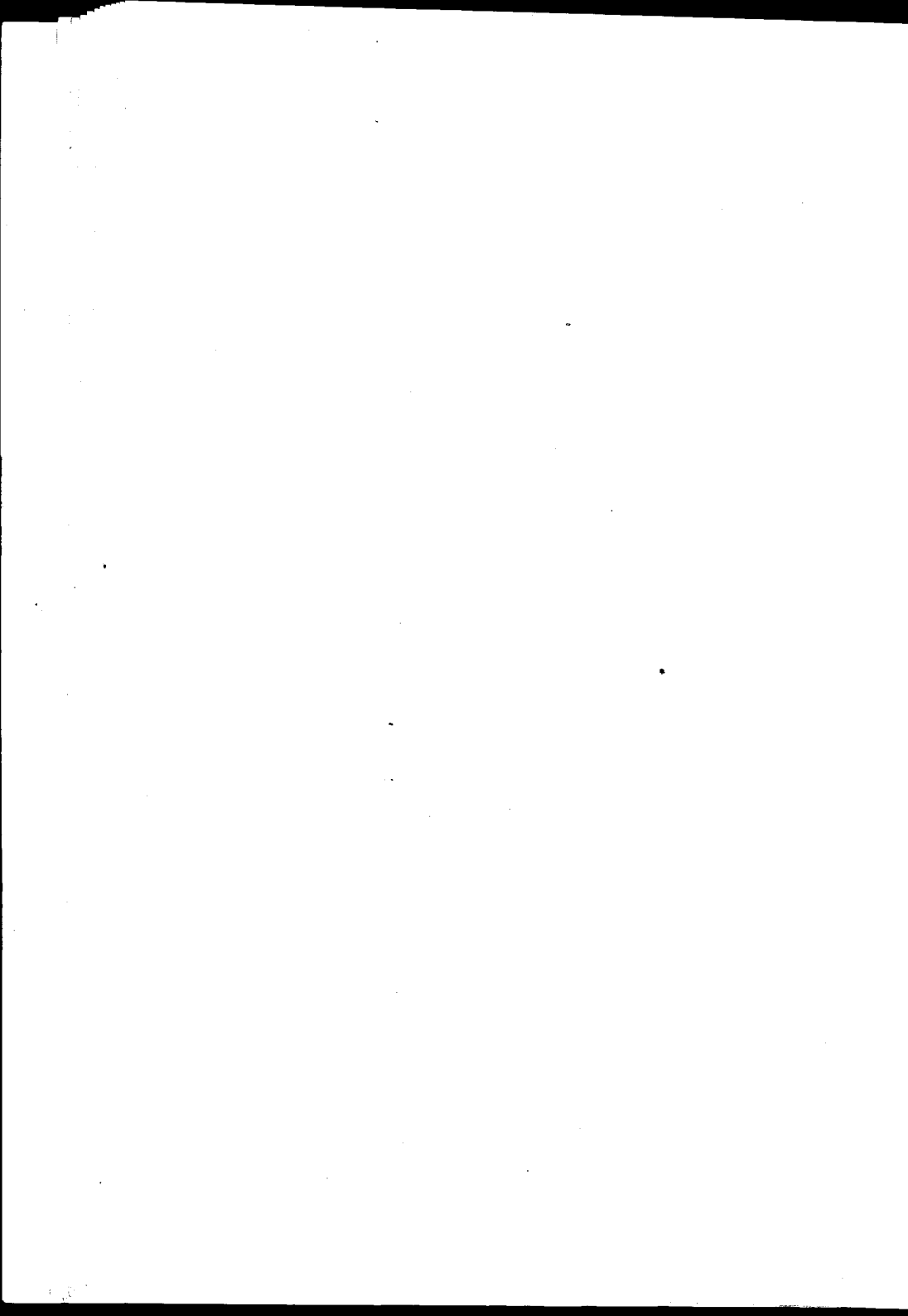
ESCUELA DE PARTERAS

Asignaturas	Catedráticos titulares
<i>Primer año:</i>	
Anatomía, Fisiología, etc.....	Dr. J. C. LLAMES MASSINI
<i>Segundo año :</i>	
Parto fisiológico	Dr. MIGUEL Z. O'FARRELL
<i>Tercer año :</i>	
Clínica obstétrica	Dr. FANOR VELARDE
Puericultura.....	Dr. UBALDO FERNANDEZ



PADRINO DE TESIS :

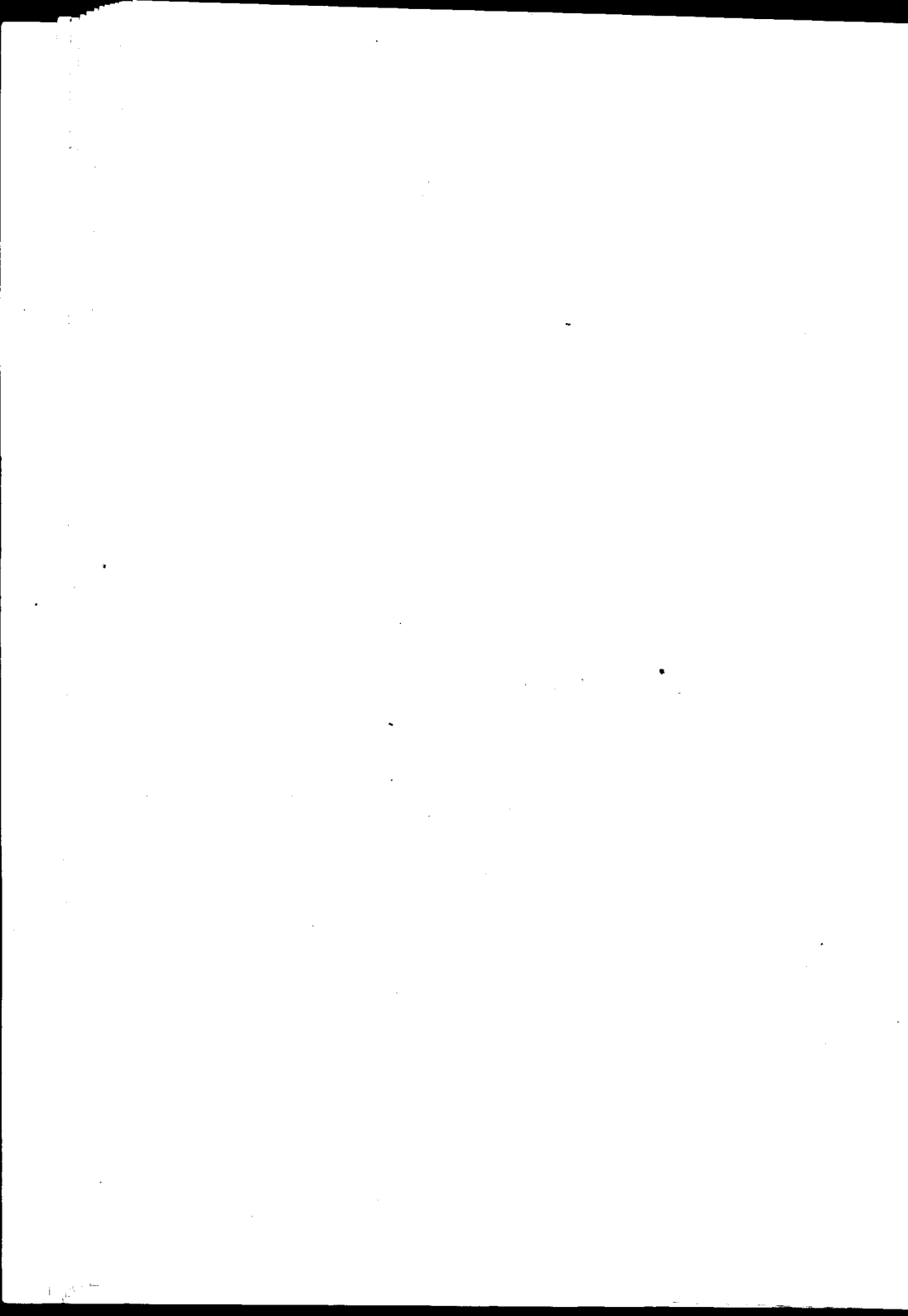
Dr. RODOLFO LEMOS



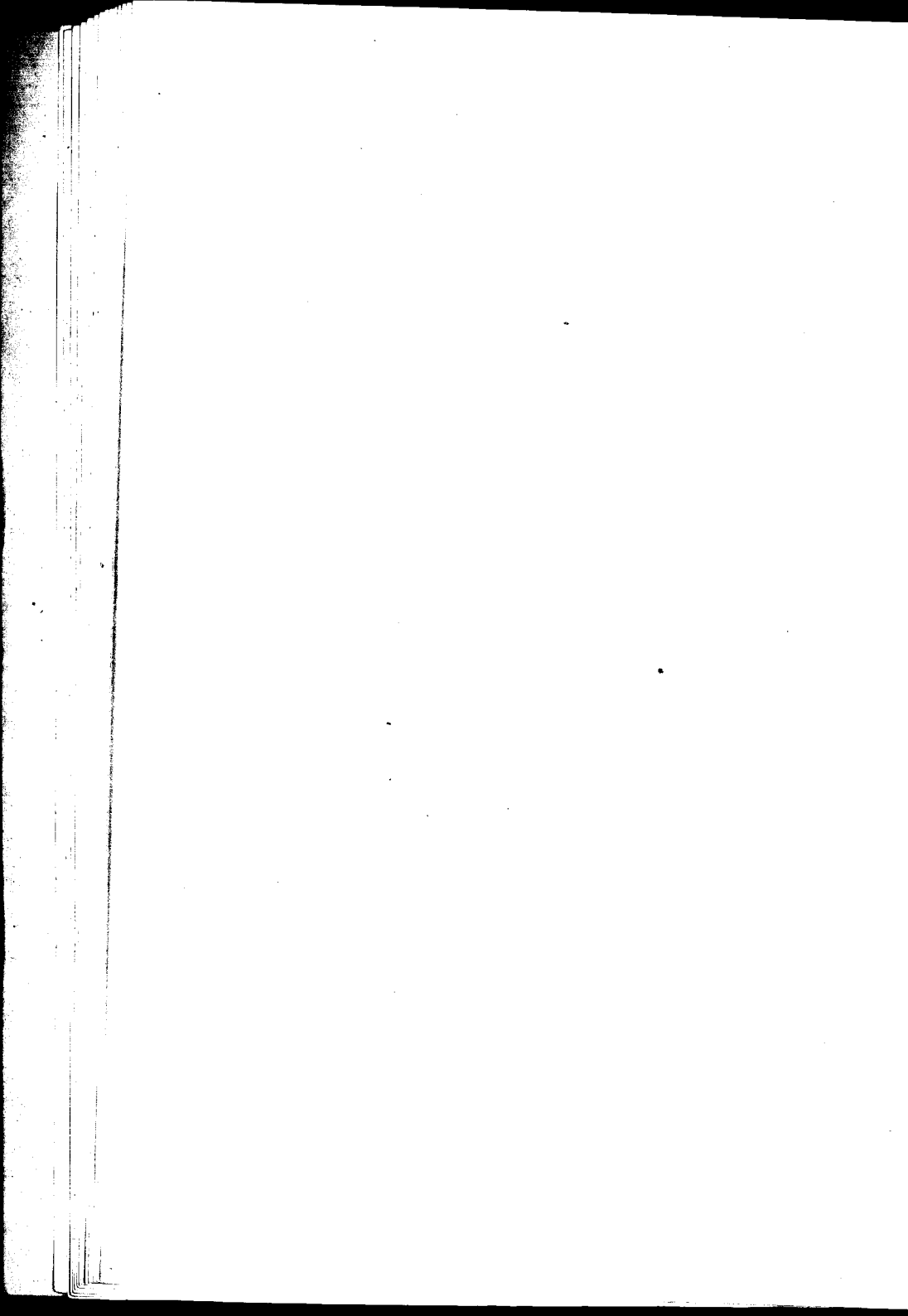
A MI ESPOSA

—

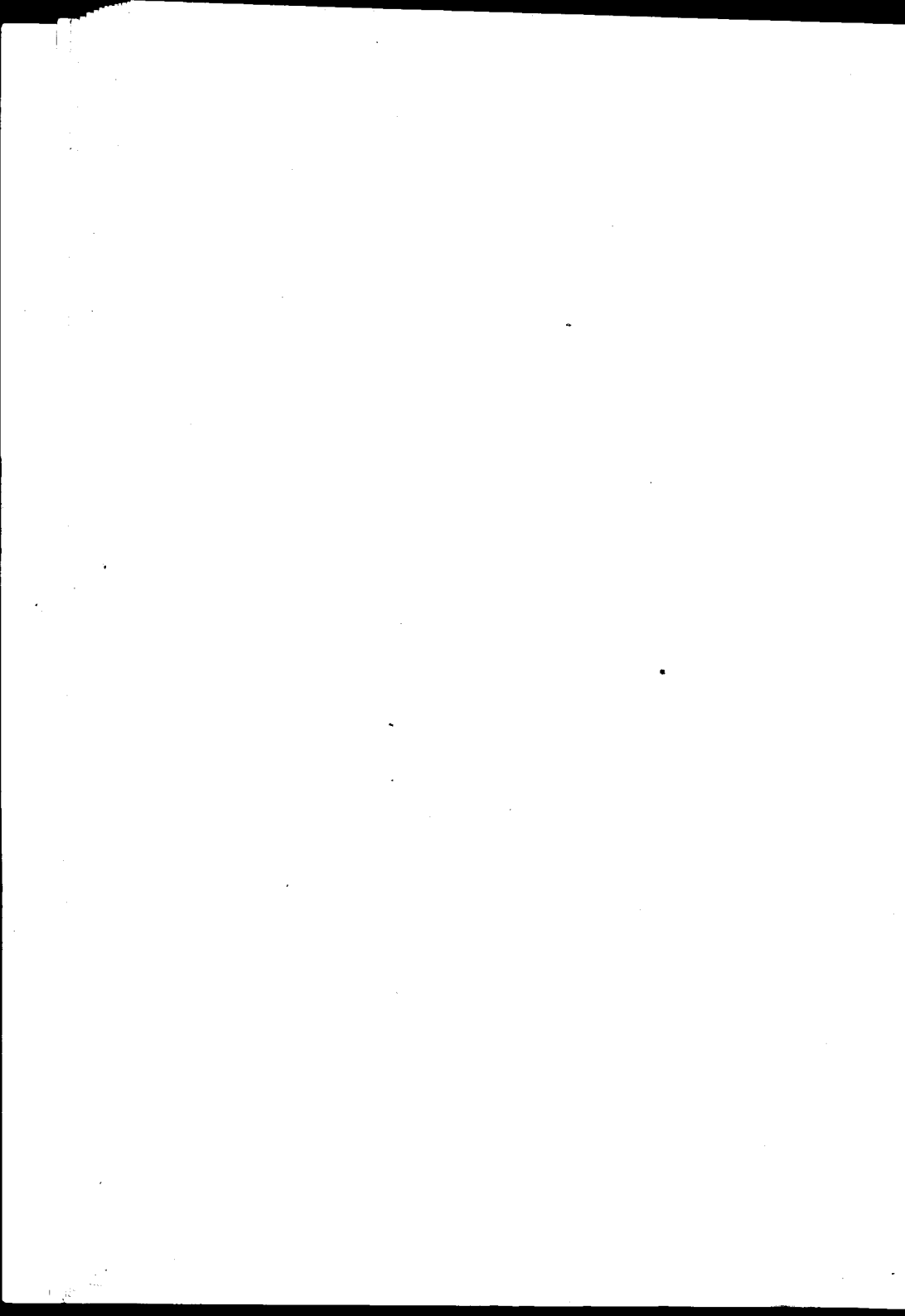
A MIS HIJITOS



A LA MEMORIA DE MI MADRE

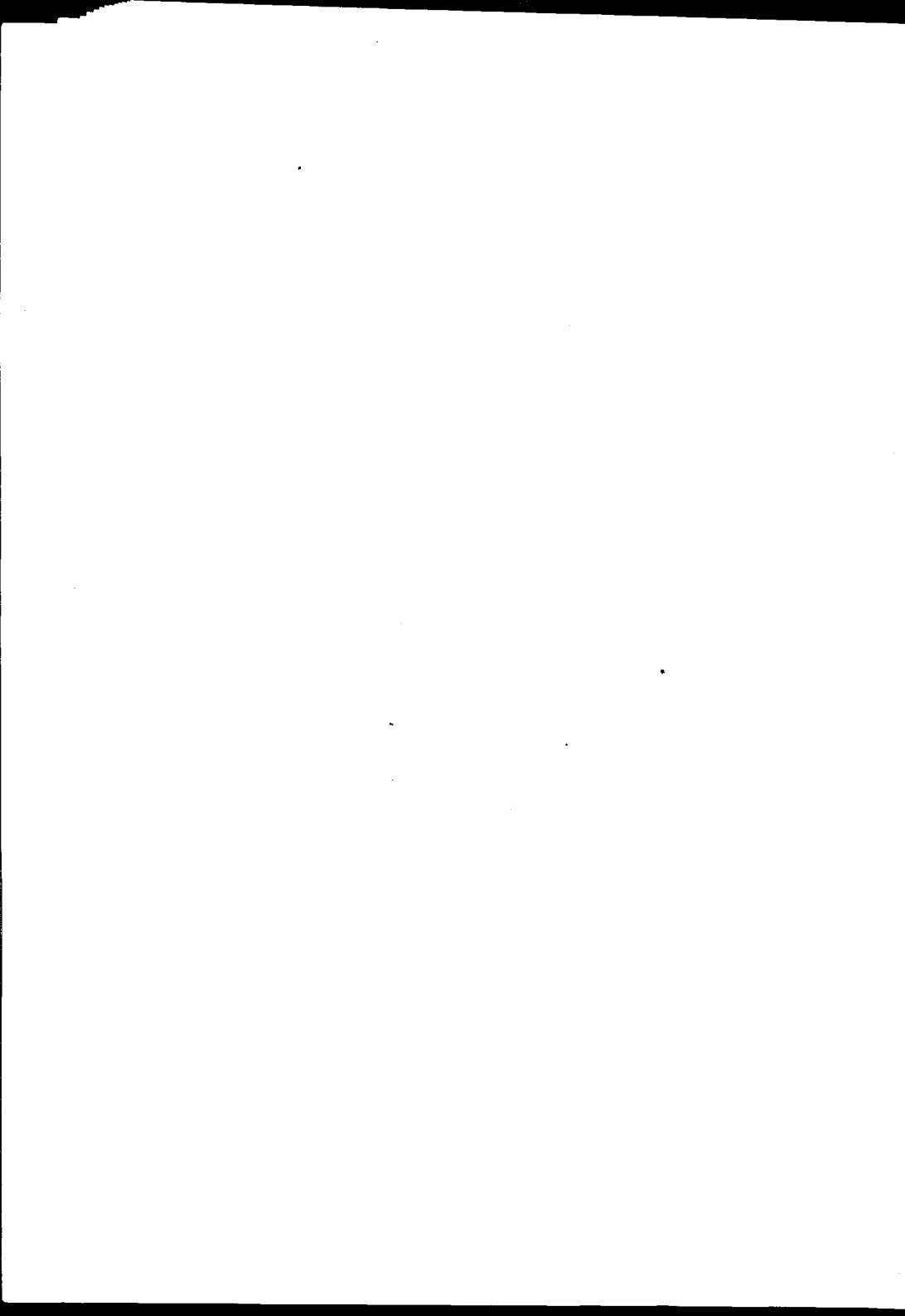


A MI PADRE



A MI MADRE POLÍTICA :

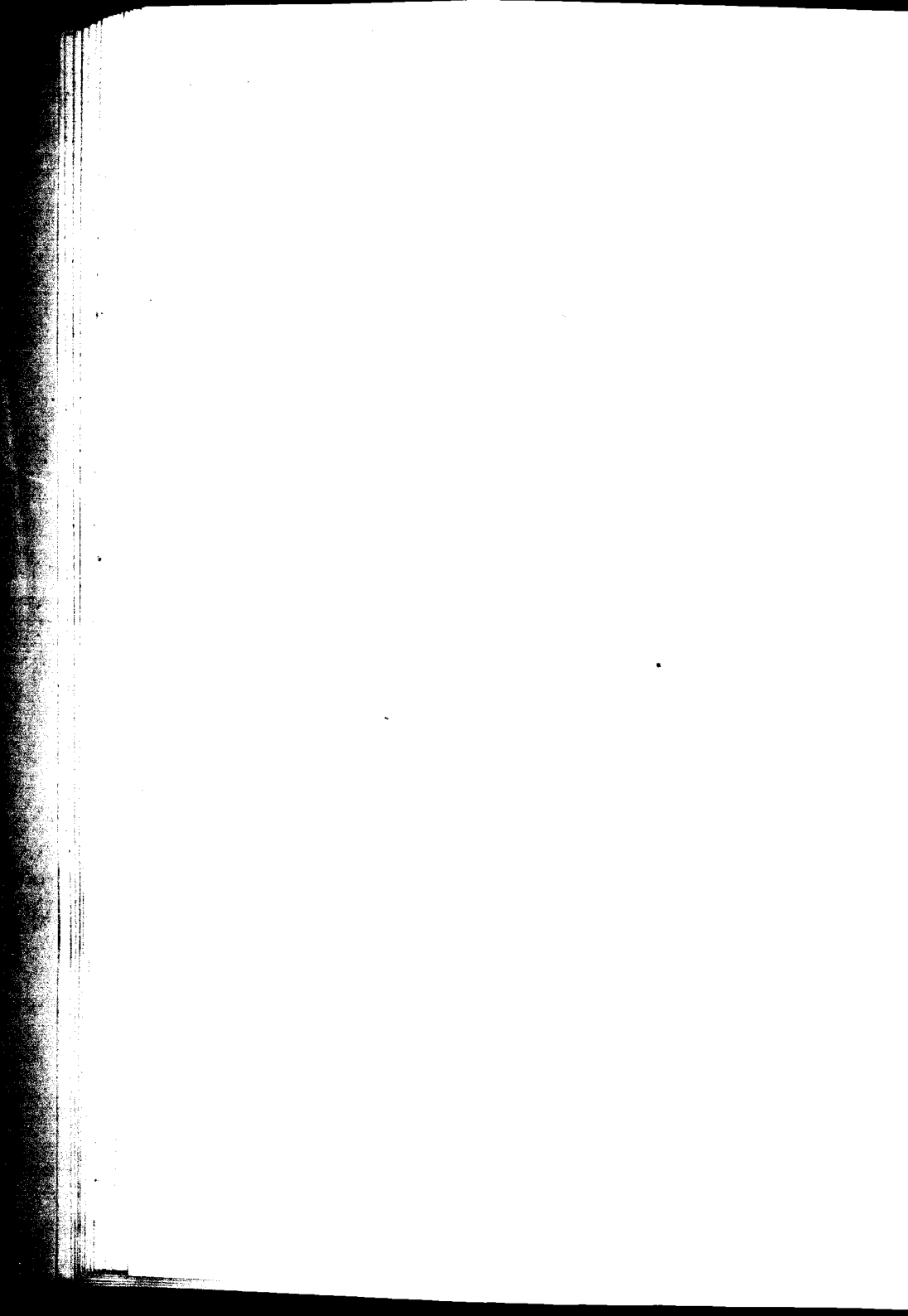
SEÑORA AUDELINA ROMÁN DE LÓPEZ



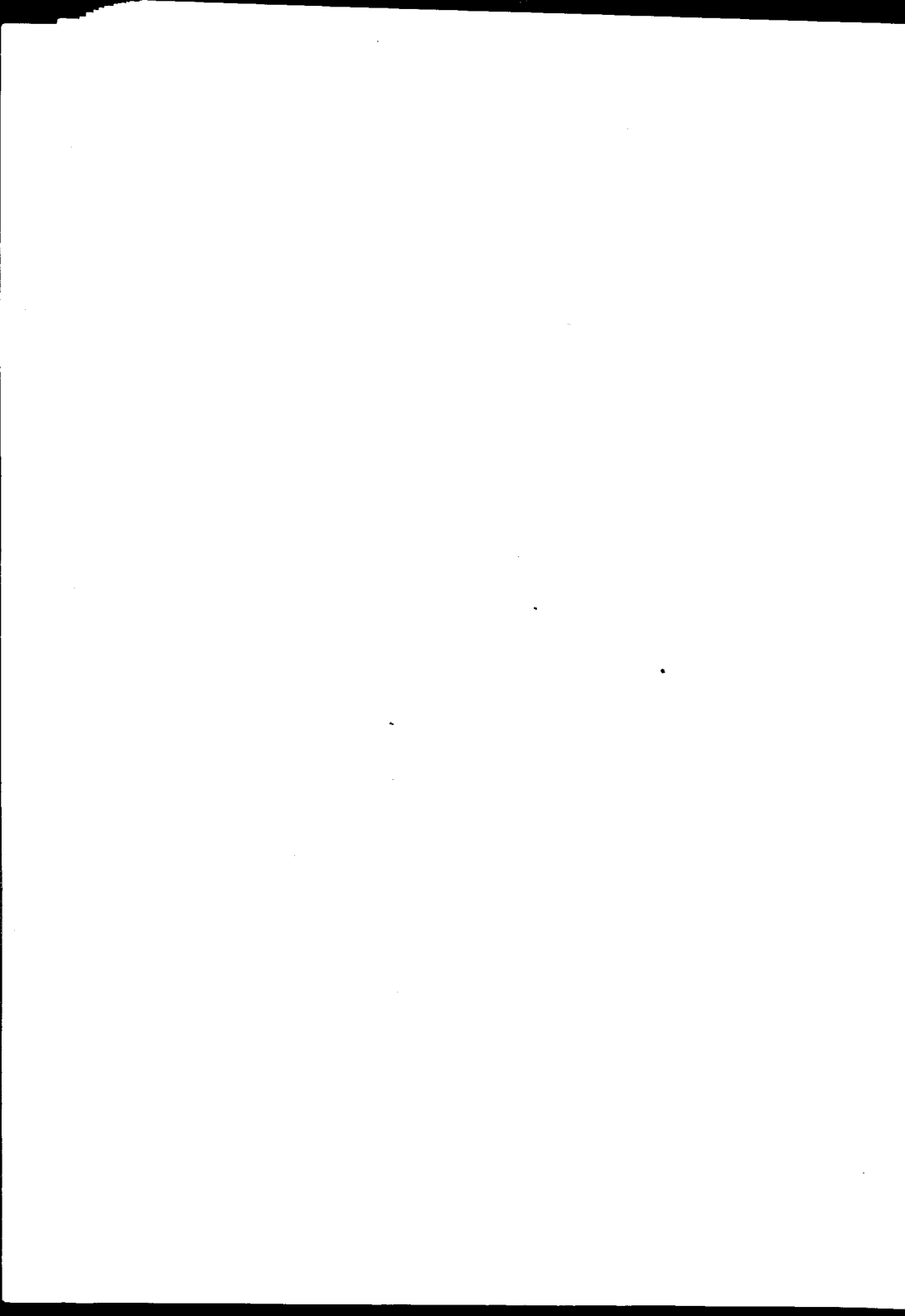
A MIS HERMANOS



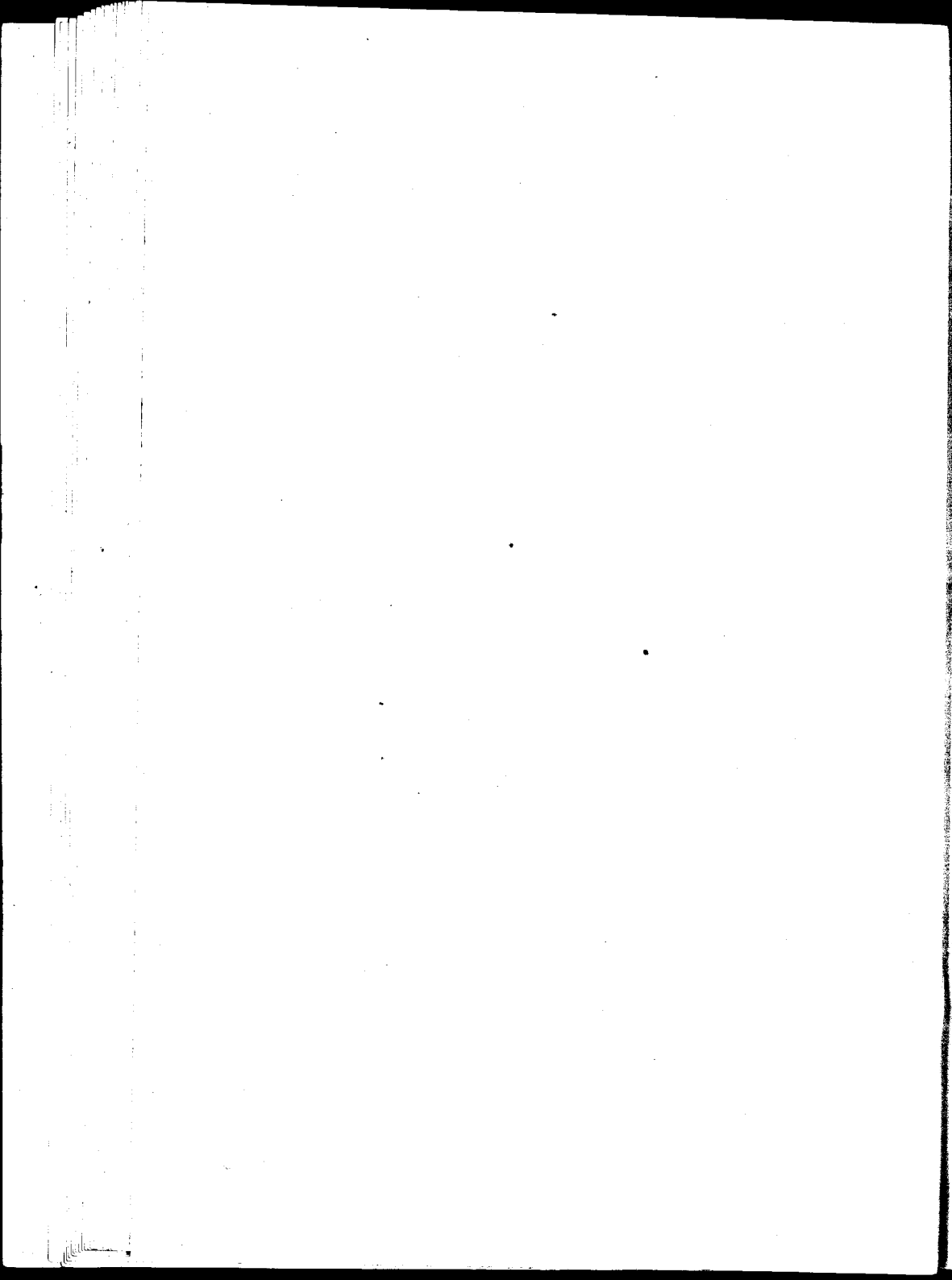
A LOS MÍOS



AL DOCTOR AURELIANO GIGENA



A MI PADRINO DE TESIS



Señores Académicos:

Señores Consejeros:

Señores Profesores:

Cumpliendo con una prescripción reglamentaria de la Escuela de Medicina, someto a la consideración de vuestro elevado criterio el presente trabajo, con el cual pretendo dar cumplimiento a la última prueba escolar para optar al título de doctor en Medicina.

Este trabajo versa sobre: *Contribución al estudio de las hemolisinas*. Trabajo al cual vengo dedicándome desde hace tiempo y que seguiré estudiándolo, por ser un tema de cuyo estudio obtendré, a no dudarlo, resultados provechosos.

Las hemolisinas de los sueros eran ya conocidas, desde los trabajos de Ponfik, 1874, y Landois, 1875, sobre la transfusión de la sangre. Pero es sobre todo Bordet, en 1898, a raíz de las experiencias de Belfanti y Carbonne sobre la toxicidad de los sueros de los animales que han sufrido inyecciones (vacunación) sucesivas de sangre defibrinada de especies

diferentes. Las hemolisinas artificiales o específicas han sido posteriormente estudiadas por un gran número de autores.

Bordet, aplicando a los glóbulos rojos sus conocimientos adquiridos sobre las acciones bactericidas, demostró la acción específica ejercida sobre los glóbulos rojos, por el suero de los animales preparados, era debido, en realidad, a dos sustancias: la *alexina* y la *sensibilizatriz*.

Ehrlich y Morgenroth, experimentalmente, llegaron a las mismas conclusiones que Bordet y pudieron demostrar y designaron las dos sustancias constitutivas de las hemolisinas, mediante una terminología diferentes, llaman "*complemento*" a la alexina y "*amboceptor*" a la sustancia sensibilizatriz.

Las hemolisinas pertenecen a la categoría de las lisinas celulares, cuyo mecanismo de acción ha sido bastante bien dilucidado en estos últimos años.

El estudio de las hemolisinas, es menester decirlo, ya que la teoría humoral es de actualidad, empiezan a llamar la atención de los biólogos inmediatamente después de las comunicaciones de Bordet. Desde el año 1887 a 1900, sólo llamó la atención la acción de la toxicidad sérica, a tal punto que la acción hemolítica pasó desapercibida, a pesar que, las dos propiedades de los sueros sanguíneos: toxi-

cidad y hemolisis, están en última relación, y, cuyos estudios debieron ser correlativos.

Debemos hacer resaltar que en el curso de ese período, bajo el impulso dado por M. Bouchard, fueron sobre todo los médicos patologistas que se ocuparon de la cuestión. Se esforzaron de reconocer las modificaciones de la toxicidad en el suero de individuos atacados de diversas enfermedades, en particular de aquellas consecutivas de autointoxicaciones.

Pudieron apercibirse luego que los resultados obtenidos por ese método, estaban muy lejos de ser satisfactorios, y las tentativas no lograron seguir adelante.

Fué entonces que las investigaciones de Bordet y sus comunicaciones, como también las de Bel-fanti y Carbonne, abrieron el estudio de las hemolisinas naturales y específicas de los sueros.

Los autores alemanes aprovecharon los hechos experimentales de éstos, ensayaron y llegaron, Eh-glich y Mongenroth, a explicar con ayuda de hipótesis, hechos evidentes, sancionados desde entonces.

A pesar de todo, se supuso que las propiedades adquiridas por los sueros, eran debidas a sustancias no aisladas aún en la hora actual y a las cuales se les dió el nombre de *hemolisinas*.

Las hemolisinas puestas en evidencia por Bordet, existen sólo en los sueros preparados, y son por

esa simple razón llamadas *artificiales* o *específicas*, las cuales deben distinguirse de las sustancias hemolíticas que se encuentran en mayor o menor grado en todo suero fresco y que se denominan: *hemolisinas naturales*. Estas, a la vez, se subdividen según su acción, como veremos en el curso de este trabajo en: *autohemolisinas*, *isohemolisinas* y *hétero-hemolisinas*.

Estas son las hemolisinas que nos interesan, las cuales investigaremos en el suero humano, en el curso de las diferentes afecciones.

En la hora actual, el estudio de las hemolisinas se ha intensificado de tal modo, que por medio de estos anticuerpos se tratan de demostrar muchos hechos, hasta ahora incomprensibles.

Chauffard, en el Congreso Francés de Medicina, de 1911, al tratar sobre el rol de las hemolisinas en patología, dice: “la interpretación teórica de los hechos queda librada a una discusión continua y queda demostrado que la intrincante reacción de los procesos fisiológicos, demuestran la acción singularmente compleja del bazo, del hígado y de los hematíes”.

En el curso de sus investigaciones sobre la naturaleza hemolítica de la ictericia congénita del adulto, considera, por las razones de orden clínico y anátomo-patológico, que el rol del bazo era preponderante y admite el origen probable del proceso en

la *hiperesplenía* y en la *espleno-hemolisis*. Pero en la actualidad, M. Nolf, de quien se conoce todo el rigor científico y la habilidad técnica, nos presenta las experiencias más demostrativas e interesantes al respecto. Nos demuestra toda la importancia de la función hemolisante del bazo, al mismo tiempo que sus curiosas relaciones con la acción del plasma y de la célula hepática; nos suministra una nueva prueba de esa ley tan general en biología; la vida normal es un juego delicado de fuerzas contrarias compensadas: un *equilibrio*; como la vida patológica es una ruptura pasajera o durable de ese equilibrio normal.

J. Troisier llega a la conclusión y lo demuestra experimentalmente que el bazo tiene un auto poder hemolítico. El tejido esplénico contiene una verdadera hemolisina, según ese autor, no se encuentra ligada a ningún proceso mórbido y existe sobre todo al estado fisiológico.

Igualmente ha demostrado la existencia de un poder hemolítico de ciertos órganos, como el hígado, pulmón y riñón; no habiéndolo observado aún en el testículo, en los músculos y en el cerebro. Más bien cree que éste último órgano posee un verdadero poder anti-autohemolítico.

El presente trabajo constará de dos partes. En la primera parte nos concretaremos al estudio del fenómeno o proceso de la hemolisis, es decir, las

substancias globulizantes, como también trataremos el mecanismo que la produce. En la segunda parte nos concretaremos al estudio experimental de los diferentes poderes hemolíticos de un mismo suero al estado normal y durante los intercambios; los métodos de experimentación y del dosaje aléxico, y por último del estudio de las hemolisinas en los sueros al estado patológico.

Antes de terminar este prólogo, sólo nos resta dejar constancia de que el presente trabajo ha sido efectuado en el Laboratorio del servicio de Clínica Médica del Dr. Rodolfo Lemos, Pabellón 4.º (arriba) del Hospital Rivadavia.

Primera Parte

Los agentes globulizantes y mecanismo de la hemolisis

CAPITULO I. — Hemolisis por el agua destilada.

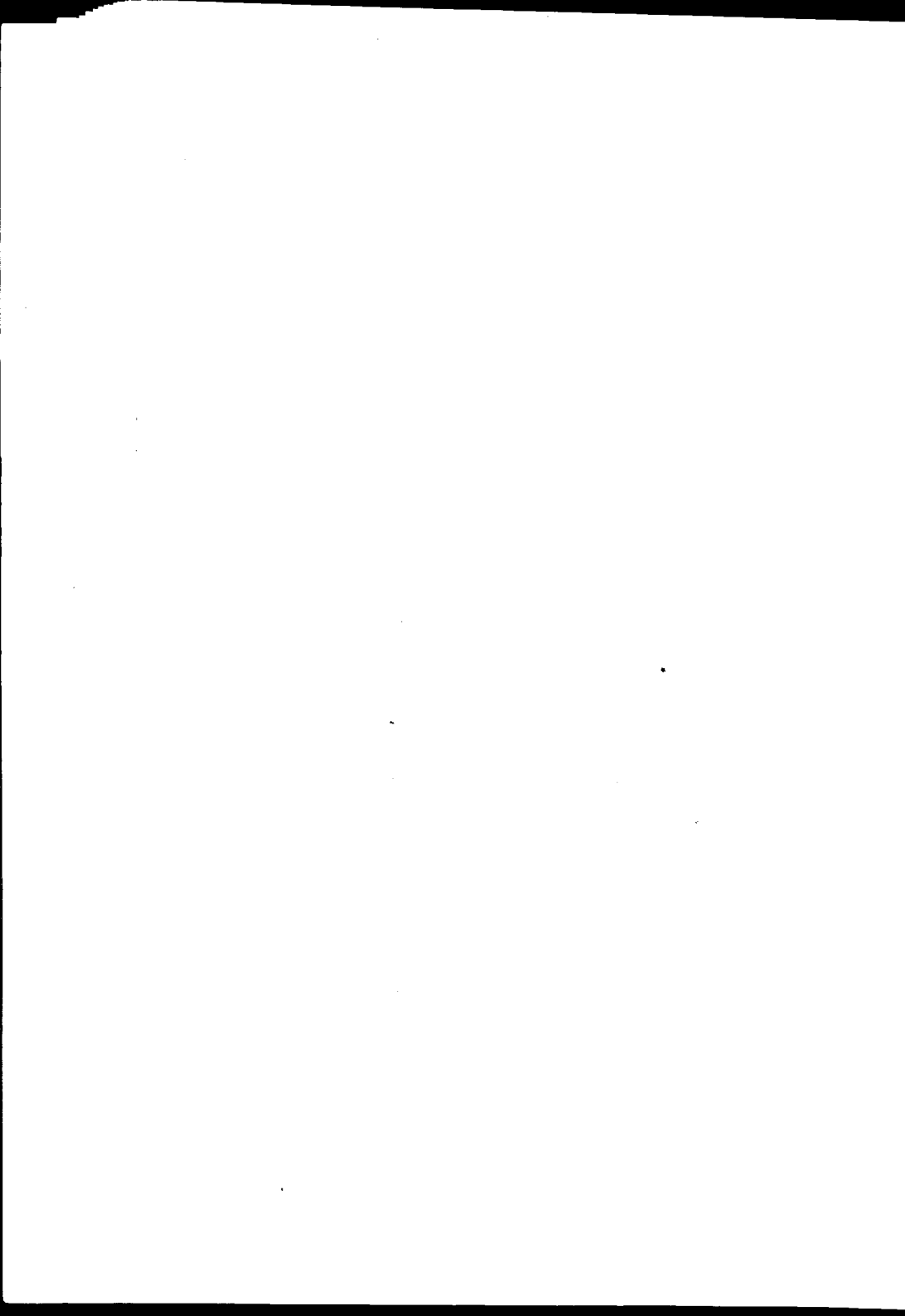
» **II.** — Hemolisis por agentes químicos.

» **III.** — Hemolisis por agentes físicos.

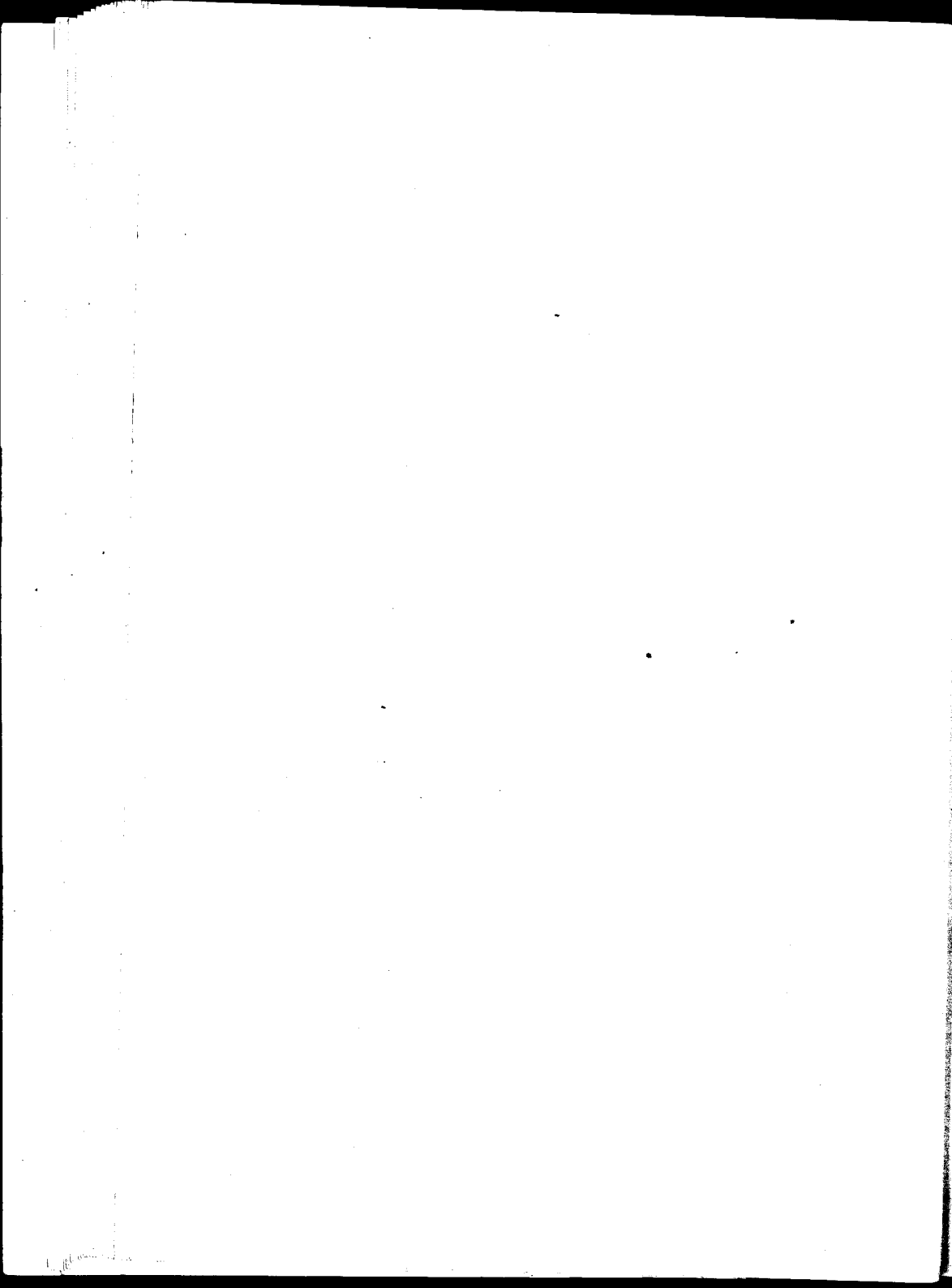
» **IV.** — Hemolisinas.

» **V.** — Sueros hemolíticos.

APÉNDICE. — Venenos amniales hemolíticos y Bacteriolisurias
y antihemolisinas.



**Los agentes globulizantes y mecanismo de la
hemolisis**



La disolución del glóbulo rojo, la separación de la hemoglobina de su estroma constitutivo, es el fenómeno que se conoce con el nombre de *hemolisis* de *hemos*, sangre y *lisis*, disolución. Es evidente que la esencia de este proceso consistente en la salida de la hemoglobina del interior del glóbulo rojo, para lo cual es de imprescindible necesidad que hayan fuerzas o sustancias extrañas que actúen sobre los hematíes, alterando las condiciones normales del estroma, haciéndole perder su capacidad de mantener la hemoglobina, o que se rompa el equilibrio fisiológico existente, según Nolf, entre las sustancias que constituyen el suero, el estroma globular y los elementos solubles del hematíes.

Los glóbulos rojos constan:

1.º De un protoplasma extremadamente pálido y friable: el *estroma*.

2.º De una materia colorante o *hemoglobina*, que se fija en el estroma por fuerzas aún desconocidas.

El *estroma* consta de diversas sustancias que trataremos brevemente a continuación, a fin de ponernos en condiciones de abordar con mayor fidelidad el importante proceso de la hemolisis. Estas sustancias son:

1.º *Albúminas*. — El estroma seco de los glóbulos rojos contiene $2\frac{2}{3}$ partes de albuminoides; según Wooldidge, el albuminoide principal es una *globulina*, y para otros autores se trataría de un *núcleo-proteido*. En los núcleos de los eritrocitos de las aves hay nucleína compuesta de ácido nucleínico e histoma.

2.º *Grasas*. — La *grasa neutra* no existe en los glóbulos rojos; en cambio, se encuentra la *colesterina* (en estado libre, no combinada con los ácidos), y la *lecitina*. Las sustancias solubles en alcohol, éter y cloroformo (según Pascucci), constituyen la tercera parte de la sustancia seca.

3.º *Hidratos de carbono*. — Hasta hace poco tiempo se admitía generalmente que el azúcar de uva no se encontraba en los glóbulos rojos, sino solamente en el plasma. Los glóbulos contienen en sí mismo una sustancia reductora, que es *glucosa* y que en estado normal debe ser igual a la cantidad que contiene el plasma.

4.º *Compuestos orgánicos.* — La *úrea* está proporcionalmente repartida entre los glóbulos y el suero.

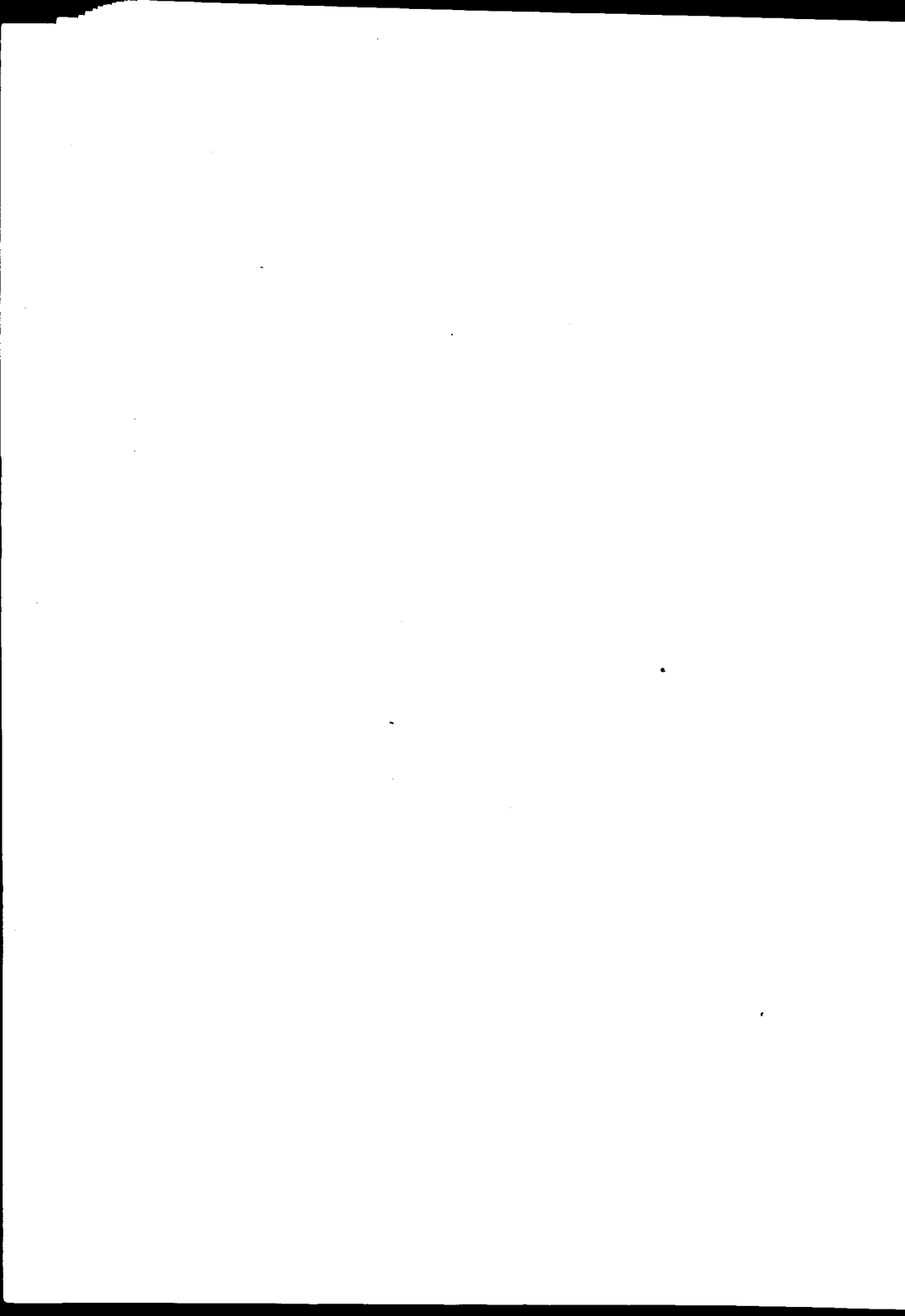
Se encuentran también vestigios de ácido láctico.

5.º *Agua.* — La cantidad de agua representa aproximadamente un 60 o|o.

6.º *Substancias inorgánicas.* — Están representadas especialmente por combinaciones de sales de potasio. Los ácidos, fosfórico y sulfúrico, encontrados en las cenizas, no están preformados en los hematíes. El ácido fosfórico procede de la combustión de la lecitina; el ácido sulfúrico de la combustión de la albúmina.

Los hematíes (según Koeppe) tienen una membrana semipermeable que los rodea; esta membrana tiene en su composición substancias muy parecidas a las grasas; a esas substancias se las conoce con el nombre de *lipoides*. La destrucción o rasgadura de esta membrana da a la sangre el aspecto transparente, cualidad que adolece al estado normal.

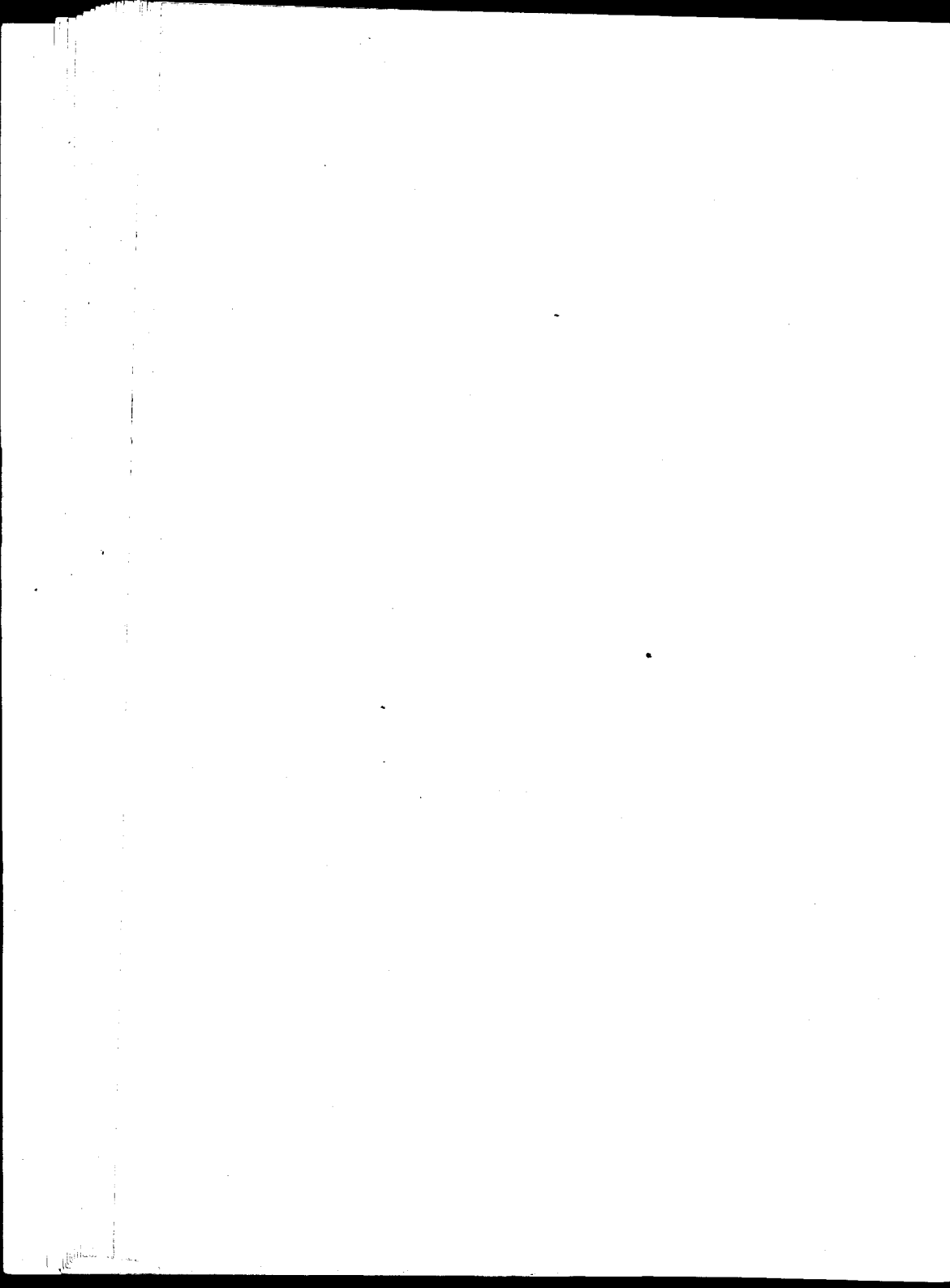
Innumerables son las fuerzas extrañas que actúan sobre los hematíes, ya sean químicas o físicas, etc., las que serán motivo de un especial estudio, en la primera parte de este trabajo; siendo todas esas fuerzas altamente perjudiciales para la capacidad vital del hematíe.



CAPITULO I

Hemolisis por el agua destilada

(Tensión osmótica e isotonia)



La acción del agua destilada sobre el hematíe es sumamente importante en el estudio de la globulolisis, y es imposible hacerlo en forma completa y razonada sin el concurso de la acción osmótica.

La interpretación científica del fenómeno de la hemolisis data desde los últimos años del pasado siglo y de los primeros del presente.

Cuando se introduce en un pequeño tubo que contiene agua, una cantidad mínima de una dilución al 1|250 de sangre defibrinada, se constata inmediatamente la coloración amarillo-rojiza, o rojo obscuro, según la cantidad de sangre empleada. Los glóbulos rojos han cedido al medio en que se encuentran parte de su hemoglobina, la cual se ha difundido en el agua. Si la dilución de la sangre corresponde a un índice muy débil, se puede constatar, dejando el tubo en reposo durante cierto tiempo, o mejor aún centrifugando, que no existe en el fondo depósito alguno. Agitando el mismo tubo después de haberlo centrifugado, no modifica en lo más mí-

nimo el aspecto del líquido, no hay enturbiamiento alguno. Esto significa, bajo el punto de vista macroscópico, que la destrucción globular se ha efectuado; la hemólisis de la solución de sangre defibrinada ha sido total.

En cambio, pasa todo lo contrario si el tubo es de calibre pequeño, el volumen de agua destilada es relativamente débil en relación con la sangre empleada, se constata después de cierto reposo, o centrifugando un ligero depósito de aspecto viscoso, de color rojo, que agitando enturbia el líquido.

Tal es el fenómeno, pero es necesario examinar al microscopio las modificaciones sucesivas que presentan los hematíes en presencia del agua. Esta tiene una acción nociva tan rápida para los glóbulos rojos que los diversos estados del proceso hemolítico son de difícil observación. Si por ejemplo colocamos una gota de sangre sobre un porta-objeto y lo recubrimos con un cubre, e introducimos bajo el cubre por capilaridad una gota de agua, vemos casi instantáneamente a los glóbulos cercanos a la periferia (los primeros sometidos a la acción del agua introducida) aumentar rápidamente de volumen, se aclaran y terminan por hacerse invisibles. En cambio, introduciendo bajo el cubre una gota de glicerina salada, los discos de color invisible se retraen instantáneamente.

El mecanismo íntimo de la acción del agua des-

tilada sobre los glóbulos rojos, quedó durante mucho tiempo sin interpretación. Se sabía perfectamente que en ese fenómeno se efectuaba, la separación de la hemoglobina del estroma constitutivo del glóbulo. ¿Pero bajo qué influencias se efectuaba esa separación? Era lo que no podía explicarse. En esa época se contentaban los autores de hablar de la acción tóxica del agua, sin preocuparse en determinar la naturaleza de esa acción. La manera de encausar el fenómeno cambió el día en que se estudió con detalles las modificaciones sufridas por los glóbulos rojos en presencia de soluciones salinas de diferente concentración.

Es entonces que Hamburger pudo dar una explicación científica de la hemolisis por el agua destilada. Habiendo observado que los glóbulos rojos nucleados de diferentes especies puestos en presencia de soluciones cada vez más débiles de cloruro de sodio, como también de otras sales; los glóbulos se hinchan cuando la solución adquiere cierto límite, y es en soluciones inferiores sobre todo cuando el glóbulo empieza a perder su hemoglobina. Hamburger fué llevado por deducción lógica de los hechos a introducir nociones relativamente antiguas, como las de: presión osmótica, de isotonía o de equilibrio molecular y asimilar bajo cierto grado el estroma globular a una membrana semipermeable.

En vez de concebir la hemolisis como resultado de una acción química, cuya naturaleza no era explicable, introdujo a los efectos de llegar a conclusiones satisfactorias concepciones de orden puramente físicas que verificadas posteriormente resultaron de un valor inapreciable en sus aplicaciones prácticas.

Hamburger no hizo más que aplicar los conocimientos ya establecidos.

De las primeras investigaciones efectuadas sobre la acción de las soluciones salinas, llegó a constatar ciertos fenómenos en un todo comparables a los observados por H. de Vries, en la acción de las mismas soluciones salinas sobre las células de los vegetales.

Habiendo agregado a soluciones de nitrato de potasa, en concentraciones decrecientes, una misma cantidad de sangre de buey defibrinada, después de agitar y dejarlas en reposo, pudo ver que en las primeras soluciones (1,1; 1,08; 1,06; ... 1,02 o/o) los glóbulos rojos habíanse depositado en el fondo de los tubos sin haber comunicado al líquido tinte alguno; mientras que, en las otras soluciones, siguiendo en el orden decreciente, habían tomado una coloración roja y, tanto más roja, mientras más débil era la solución. Tenemos entonces que en la solución de nitrato de potasio a 1,02 o/o los hematíes conservan su hemoglobina, mientras disminuyendo

la concentración de la solución a 1 o/o pierden ya una parte de su hemoglobina. Este fenómeno límite, principio de la hemolisis, correspondía exactamente al principio de la plasmólisis observada, como ya se ha dicho, sobre la célula vegetal por H. de Vries.

Pero esa analogía no se concreta a esto único. Continuando sus investigaciones con soluciones de diferentes sales alcalinas y alcalino-térreas, como por ejemplo (Na Cl, Mg SO⁴, Ca Cl², KI, NaI, KBr, K. SO⁴, Mg Cl², Ba Cl²). Hamburger pudo llegar a comprobar y demostrar que para esas diferentes sales, las soluciones en las cuales se manifestaba un principio de hemolisis eran isotónicas, en relación con los resultados obtenidos por H. de Vries. Estos resultados pueden reasumirse diciendo que: las concentraciones que corresponden al límite de la hemolisis son equimoleculares; tienen el mismo punto de congelación y misma tensión osmótica.

Las cifras que obtuvo Hamburger mediante el método de los glóbulos rojos, son en un todo concordantes con los obtenidos por H. de Vries, mediante el método de la plasmólisis de las células vegetales.

Por otra parte, así como se establecieron los resultados definitivos para la sangre de buey, fueron encontrados igualmente los correspondientes

para la sangre humana, de caballo, de pájaro, de pescado, de rana, etc. Sólo las cifras absolutas difieren de una especie a otra; pero las relaciones son siempre idénticas.

Hamburger, con los resultados obtenidos, llegó a admitir que las soluciones salinas límites, tenían una tensión osmótica sensiblemente igual, ligeramente superior a la del propio glóbulo rojo. De ahí dedujo que esas mismas soluciones eran isotónicas al suero normal del individuo, en las cuales los glóbulos rojos permanecían intactos. Y pudo demostrar lo precedente mediante la siguiente experimentación:

“Habiendo observado que los hematíes de la rana permanecían inalterables en una solución de cloruro de sodio al 0,64 o/o, constató que para que se produzca la hemolisis era necesario adicionarla en 2,5 volumen de agua. Y es precisamente esa misma cantidad la necesaria de agregar al suero normal de rana, para poder observar una ligera difusión de la hemoglobina”.

Resultados igualmente satisfactorios fueron obtenidos, por este autor, con suero de buey, de caballo y de pájaros.

Para confirmar sus bien fundadas interpretaciones, echó mano de otros dos métodos: el *crioscópico* y el del *hematocrito*.

El método crioscópico está basado sobre la de-

terminación del punto de congelación de los sueros y de las soluciones supuestas isotónicas. Estos estudios ya habían sido efectuados por Dresser, y Hamburger los repitió, demostrando la isotonía de las soluciones límites y la de los sueros.

Para el segundo método, Hamburger recurrió al pequeño aparato que Hedin hizo conocer en el año 1891 con el nombre de *hematocrite*, aparato ideado con el objeto de determinar aproximadamente el número total de glóbulos rojos de la sangre. Este aparato funciona mediante una fuerza centrífuga. Está constituido por una pequeña pipeta, regularmente calibrada y graduada. La sangre es introducida por aspiración y la pipeta de inmediato es herméticamente cerrada mediante placas de caoutchouc, es fijada a una centrífuga a mano, que da 6.000 revoluciones por minuto. Al cabo de 15 ó 20 minutos, el volumen ocupado en la pipeta por el depósito globular es constante.

Tenemos entonces que una cantidad de sangre en contacto con las soluciones consideradas como isotónicas, debían en un tiempo igual dar también un depósito globular igual; es lo que se pudo constatar experimentalmente. Al mismo tiempo demostró que para una misma substancia, el volumen globular está en razón inversa del grado de concentración.

Así tenemos que, la isotonía de las soluciones

límites, entre ellas y la de los sueros normales, quedaba establecido, mediante los cuatro métodos perfectamente concordantes: de la plasmolisis de H. de Vrier, de los glóbulos rojos de Hamburger, de la crioscopía de Dreser y Hamburger y por el hematocrito de Hedín y Hamburger.

Hedín introdujo en el método de los glóbulos rojos la noción de la disociación parcial de las moléculas electrolíticas en *iones*, de cuya noción Arrhenius (1) había llamado la atención.

Es sabido que los iones se comportan como moléculas mismas, y la tensión osmótica de una solución es tanto más elevada cuanto más fuerte es la disolución de las moléculas salinas en iones.

Ahora, con lo tratado hasta aquí, podemos concebir como se opera la destrucción de los glóbulos rojos en las soluciones salinas diluidas y cuyo mecanismo es idéntico para el agua destilada.

Los glóbulos rojos están constituidos esencialmente por una pared protoplasmática, por una red de tabiques que transforman el interior del glóbulo rojo, en infinito número de pequeñas vacuolas. Es-

(1) Arrhenius admite que todas las sustancias de las soluciones que conducen la electricidad (electrolitos) son en parte disociados en sus propias soluciones. Cada molécula es dividida en dos o más átomos o grupos anatómicos cargados de electricidad de nombre contrario. Esos átomos o grupos anatómicos se llaman iones. Bajo el punto de vista de la tensión osmótica cada ion, juega el rol de una molécula.

tas vacuolas encierran un contenido líquido, el cual contiene a la vez sustancias en solución: una materia colorante, la hemoglobina y sales, siendo las principales cloruros y fosfatos alcalinos, etc., ya estudiadas en el presente capítulo.

El contenido intraglobular presenta una tensión osmótica que al estado normal es equivalente a la tensión osmótica del suero que baña a los glóbulos rojos. Tenemos que la isotonía es perfecta entre ambos medios, externo e interno.

El estroma globular desempeña el rol de una membrana permeable al agua, impermeable con respecto al contenido globular. La tensión osmótica del contenido exterior viene a quedar tan bajo en el caso del agua destilada, que se establece una corriente de agua del exterior al interior del glóbulo, a través de la membrana protoplasmática.

El glóbulo aumentará entonces de volumen. Ese aumento de volumen se traduce por las modificaciones que experimenta en sí, aumentando su diámetro normal que de 7 micrón 60 puede llegar a tener 7 micrón 80, momento después de haber empezado la hemolisis.

Pueden practicarse las mesuraciones de los glóbulos mediante la regla globulimétrica y siguiendo las indicaciones establecidas por Malassez.

La membrana protoplasmática del glóbulo rojo se encuentra distendida, pero esta distensión tiene

un límite. Este límite está en relación con la elasticidad de la capa parietal protoplasmática. De lo expuesto deducimos entonces que si la tensión osmótica exterior es muy débil o nula, los glóbulos rojos aumentarán de volumen, de tal manera que en un momento dado la membrana protoplasmática estallará: veremos entonces en este momento a la hemoglobina difundirse en el medio exterior. Macroscópicamente es el principio de la hemolisis.

Fenómenos inversos, pero del mismo orden, se observan cuando se introduce glóbulos rojos en soluciones cuyo poder osmótico es superior al contenido de los hematíes. La corriente de agua destilada se establecerá entonces del interior del glóbulo hacia el exterior; se efectúa, en una palabra, la expulsión de una parte del agua que lo constituye y traerá como consecuencia la disminución del volumen de los hematíes y tomarán el aspecto de bolas espinosas, transformación que se observa fácilmente en las diluciones salinas de sangre, sometidas a una desecación lenta o progresiva, o como se observa también en las orinas que contienen sangre (hematurias) de una densidad elevada y cuyo índice crioscópico es muy bajo.

¿Qué pasa con el estroma, después de la expulsión de su hemoglobina? No ha sido destruido por el agua destilada. Esta, concreta su acción a la

separación de la hemoglobina del estroma; sólo hasta aquí llega su poder destructor.

El estroma globular forma en el fondo del tubo un depósito invisible macroscópicamente, cuando se trata de sangre humana sometida a la acción del agua destilada. Si se efectúa la hemólisis sobre glóbulos de pájaros, cuyo estroma es nucleado, se forma un enorme depósito viscoso que ocupa el $\frac{1}{3}$ o la $\frac{1}{2}$ de la columna líquida. Al exámen microscópico estos estromas, aumentados de volumen, aparecen como manchas blanquizas sobre un fondo ligeramente rosado.

En resúmen: difusión del medio externo hacia el contenido globular; aumento de volumen del glóbulo rojo limitado durante cierto tiempo por la elasticidad de la capa protoplasmática; por último, rotura de la capa y difusión de la hemoglobina en el medio externo, mientras que los estromas globulares persisten. He aquí como las investigaciones de Hamburger nos han llevado paulatinamente a concevir en sus diferentes fases la hemólisis por la acción del agua destilada.

Una concepción tan simple del fenómeno no es rigurosamente exacto. Un exámen más atento, una interpretación más rigurosa de los hechos nos permitirá aportar algunas restricciones y algunas nociones complementarias que nos facilitarán la com-

presión de la acción de otros cuerpos químicos que serán estudiados en el capítulo siguiente.

En todos los estudios hasta aquí hechos se ha considerado la pared globular como una membrana semipermeable, para la cual el agua destilada es un cristalóide y la hemoglobina y sus sales alcalinas y alcalino-térreas son sustancias coloides. Esto es absolutamente exacto y es necesario considerar que esas sales no pueden penetrar la pared globular. Hamburger desechaba esto y se fundaba, para establecer esas reservas, sobre las experiencias siguientes:

Habiéndose mezclado una cierta cantidad de sangre de caballo con una solución de azotato de potasio al 1 1/2 o/o (isotónico), constató que el tenor en cloro del suero había aumentado, lo que no podía haberse producido, sino a expensa de los cloruros del glóbulo. Por otra parte constató que el título de las soluciones límites de ClNa y de K AzO_3 para los glóbulos rojos, habiendo desprendido cloro, habrían absorbido azotato de potasio, lo que mantenía constante la tensión osmótica.

Hamburger generaliza entonces el hecho admitiendo que los glóbulos rojos poseen la "propiedad de conservar constantemente su tensión osmótica" efectuando el intercambio de alguno de sus elementos con las soluciones de los medios ambientes.

Por otra parte, constata que los hematíes so-

metidos a la acción de CO_2 — por ejemplo los glóbulos rojos de la sangre venosa — ceden al suero sanguíneo albúmina y en cambio toman a éste, cloruros. El suero proveniente de la carótida contiene menor cantidad de albúmina (materias sólidas) menor cantidad también de álcalis y mayor porcentaje de cloruros que los sueros de origen yugular.

Demostó posteriormente Hamburger que esa modificación de la permeabilidad global no era propiedad específica del gas CO_2 , pero que actúa en esa forma por su función ácida. Los ácidos SO^4H_2 , HCl , como está demostrado en proporciones extremadamente débiles $1\text{—HCl} \times 4000$ de sangre, actúan de un modo idéntico. Todo lo contrario, los álcalis $1\text{ Na (OH) } 15.000$ tienen una acción opuesta.

Tenemos, en resumen, que Hamburger, a los efectos de explicar esos hechos, dotaba al glóbulo rojo de la propiedad de mantener constante su poder osmótico por intercambio de moléculas del suero al glóbulo, intercambios que suponía equivalentes bajo el punto de vista osmótico.

Los importantes trabajos de Hedín, Koeppe y de Gryns, vinieron a sustituir interpretaciones rigurosamente científicas basadas éstas precisamente sobre el fenómeno de disociación de las moléculas en iones, en las soluciones salinas. Gryns y Hedín efectuaron sus experiencias sobre la permeabilidad

de los glóbulos rojos por diversas sustancias, y especialmente la acción de las sales alcalinas y alcalino-térreas.

Gryns observó que los cloruros de sodio y de potasio y el sulfato de amonio no penetran al interior de los glóbulos, mientras éstos son permeables para el cloruro de amonio. Con respecto a esto, había algo ya establecido. Lo que facilita el pasaje de las sales de amonio, es el radical ácido, mejor dicho el ión electro-positivo $\text{SO}^+ \text{—} \text{Cl} \text{—}$. El ión $\text{Cl} \text{—}$ es penetrante, el ión SO^+ no lo es. Si el ión $\text{Cl} \text{—}$ es penetrante, lo que impide la penetración de la molécula íntegra de Cl Na , K Cl , es la presencia antagonista de los iones electro-negativos no penetrantes del K^- , Na^- . Por el contrario, Az H^+ no tiene o no ejerce acción alguna de antagonismo sobre el ión $\text{Cl} \text{—}$. Entonces, si en una molécula un ión penetrante, el $\text{Cl} \text{—}$ por ejemplo, se une a un ión que no tiene la propiedad de franquear la pared globular por ejemplo K^- , Na^- ; la acción nociva del primero es impedida por la acción del segundo.

Gryns demostró experimentalmente que la molécula de sales alcalinas y de alcalino-térreas, no tiene acción penetrante sobre el glóbulo rojo y acabamos de ver cual es la interpretación que da del fenómeno. ¿Pero cómo explicamos entonces los hechos de observación de Hamburger enumerados ya,

y en particular la absorción de los cloruros por los hematíes bajo la acción del CO_2 ?

Es entonces que interviene la ingeniosa explicación de Koepe y que transcribo por creerla de un gran valor demostrativo:

Hematíes lavados con una solución isotónica de azúcar, después saturados con CO_2 , son colocados en una solución isotónica de Na Cl o de K Cl . Esta solución se torna alcalina y pierde a la vez una determinada cantidad de cloro. Por el contrario, no hay cambio de naturaleza alguna, si sustituimos los glóbulos saturados de CO_2 por arterializados y se reemplaza las soluciones de Cl Na , K Cl , por soluciones isotónicas de SO_4K o de SO_4Na .

Koepe explica estos hechos en las siguiente forma: “La tensión osmótica total de una solución, es igual a la suma de las tensiones parciales, de las moléculas disociadas o iones contenidos en la solución. En el medio externo (K Cl), la tensión osmótica depende únicamente del K Cl ; en el medio globular, la tensión osmótica es igual a la tensión parcial del K Cl -|- la tensión parcial del K_2CO_3 -|- la tensión parcial de las otras substancias. Las dos tensiones totales son del todo iguales. Tenemos entonces el medio exterior.

Tensión parcial de Cl — > tensión parcial de Cl — dentro del hematíe. Inversamente tenemos dentro del glóbulo, una tensión parcial de CO_3 — de

un cierto valor, cuando esta tensión es nula en el medio externo. Sabemos desde las investigaciones de Gryn's, que la pared del hematíe es permeable al CO_3^- y al Cl^- , impermeable al K^- . En el caso presente, el ion Cl^- , que normalmente es retenido en el medio exterior por K^- , podrá pasar cuando sea reemplazado inmediatamente por el ion CO_3^- que tiene una carga eléctrica del mismo nombre. Entonces una parte del K Cl será reemplazada por $\text{K}^2 \text{CO}_3$, lo que nos explica la alcalinidad del líquido, sin que haya, como ya lo había determinado químicamente Gurber, salido un solo átomo metálico del interior de los hematíes. Así se sustituye el K Cl por $\text{K}^2 \text{SO}_4$, no habrá alcalinidad; porque, como bien se sabe, el ion SO_4^- no es penetrante de la pared globulár.

Las investigaciones de Gryn's, las experiencias y la interpretación de Koeppé, al mismo tiempo que nos facilita la comprensión de los fenómenos paradojales, ya observados por Hamburger, nos permite afirmar que la pared protoplasmática del glóbulo rojo es normalmente impermeable a las sales alcalinas fijas y alcalino-térreas en soluciones diluidas; que las soluciones diluidas de estas sales actúan para producir la hemólisis, únicamente por el agua de dilución, cuya acción es idéntica al del agua destilada; que la globulolisis por esos agentes es un fenómeno de un orden puramente físico, al cual es

aplicable las leyes que rigen la tensión osmótica y no (como bien dice Ribierre) un fenómeno químico más o menos misterioso.

La difusión de la hemoglobina en el medio exterior, sucede al agrandamiento del glóbulo debido a la imbibición del jugo protoplasmático, por el agua penetrada al través de la pared globular. Se admite entonces que esa difusión de la hemoglobina es debida a un estallido parcial o total del estroma cuya elasticidad ha sido llevada a un límite máximo, según la mayor o menor distensión. ¿Es así como acontece la salida de la hemoglobina, o mejor dicho (hablando en genérico) del contenido globular, puede ser únicamente explicado por la ruptura de la membrana? ¿O por el contrario se hace necesario concebir otro mecanismo?

Si la primera hipótesis debe tenerse por exacta, como lo hace notar Nolf, cuando un hematíe vacía en el medio externo su contenido, lo hará siempre integralmente. Pero parece que eso no sucede así: es lo que demuestran las investigaciones registradas en los trabajos tan interesantes de Stewart, de Rollet y aún las más recientes de Calugareaunet y de V. Henri, sobre la conductibilidad eléctrica de la sangre, anterior y posteriormente a la hemólisis provocada por diferentes agentes y también antes y después de la acción de ciertas soluciones consideradas como isotónicas y por consiguiente sin no-

tividad alguna para los hematíes. Sabemos que la conductibilidad eléctrica será la misma si la hemoglobina es sola difusa y el aumento de la conductibilidad resultará como consecuencia lógica de la salida de las sales.

Stewart, habiendo provocado la destrucción de glóbulos por diferentes medios (agua, sueros de especies diversas, congelación, calor, saponina) constató que la pared globular puede dejar difundir en el medio externo a la hemoglobina, sin las sales del estroma, este hecho ha sido confirmado por Rollet. Por otra parte admite que en determinados casos, las sales globulares pueden abandonar parcialmente al hematíe, sin que haya difusión de hemoglobina.

Calugareaunet y V. Henri han puesto fuera de duda esa última afirmación. Estos autores, para obtener la salida de las sales globulares, han operado con soluciones de sacarosa consideradas isotónicas e hipertónicas. Operando con el método de Kohluarsch y perfeccionado por Ostwald, pudieron comprobar que la conductibilidad eléctrica de soluciones acuosas de glóbulos previamente lavados con soluciones de sacarosas isotónicas al 56 o|oo y 70 o|oo hipertónicas; disminuyen a medida que aumentan el número de lavajes; por consiguiente el porcentaje de sales de los glóbulos rojos disminuye cuando se los lava con soluciones de sacarosa isotónicas o hipertónicas que dejan intacta la hemoglobina de los

hematíes. Calugareaunet y Henri consideran que la interpretación de esa experiencia trae aparejada una verdadera y grave complicación, para la aplicación de las leyes de la ósmosis en los fenómenos hemolíticos. Nolf, interpretando las experiencias de Stewart, había ya contestado a esa objeción: “Por lo que se refiere a la salida aislada de los electrólitos a través de una pared normal, no está esto absolutamente en desacuerdo con la teoría osmótica (puesto que Hamburger había basado su concepción osmótica sobre la noción de los intercambios isotónicos) admitiendo que la pared globular no les “es enteramente impermeable”. Veremos más adelante que las investigaciones de Hedín y de otros autores imponen esa conclusión.

No queda aún menos demostrado por las investigaciones que se han señalado, a los efectos de explicar la globulolisis por rotura del estroma, que forma una envoltura al contenido globular y que cuando un glóbulo ccha su contenido tendría que hacerlo siempre integralmente.

Stewart ha ensayado explicar la difusión separada de la hemoglobina y de los electrólitos del glóbulo, mediante la hipótesis de una combinación química de la hemoglobina con el estroma. Si esto fuera exacto, como se explicaría la salida de cierta cantidad de hemoglobina, por simple defibrinación, me-

dian­te las perlas de vidrio; hecho de observación cotidiana.

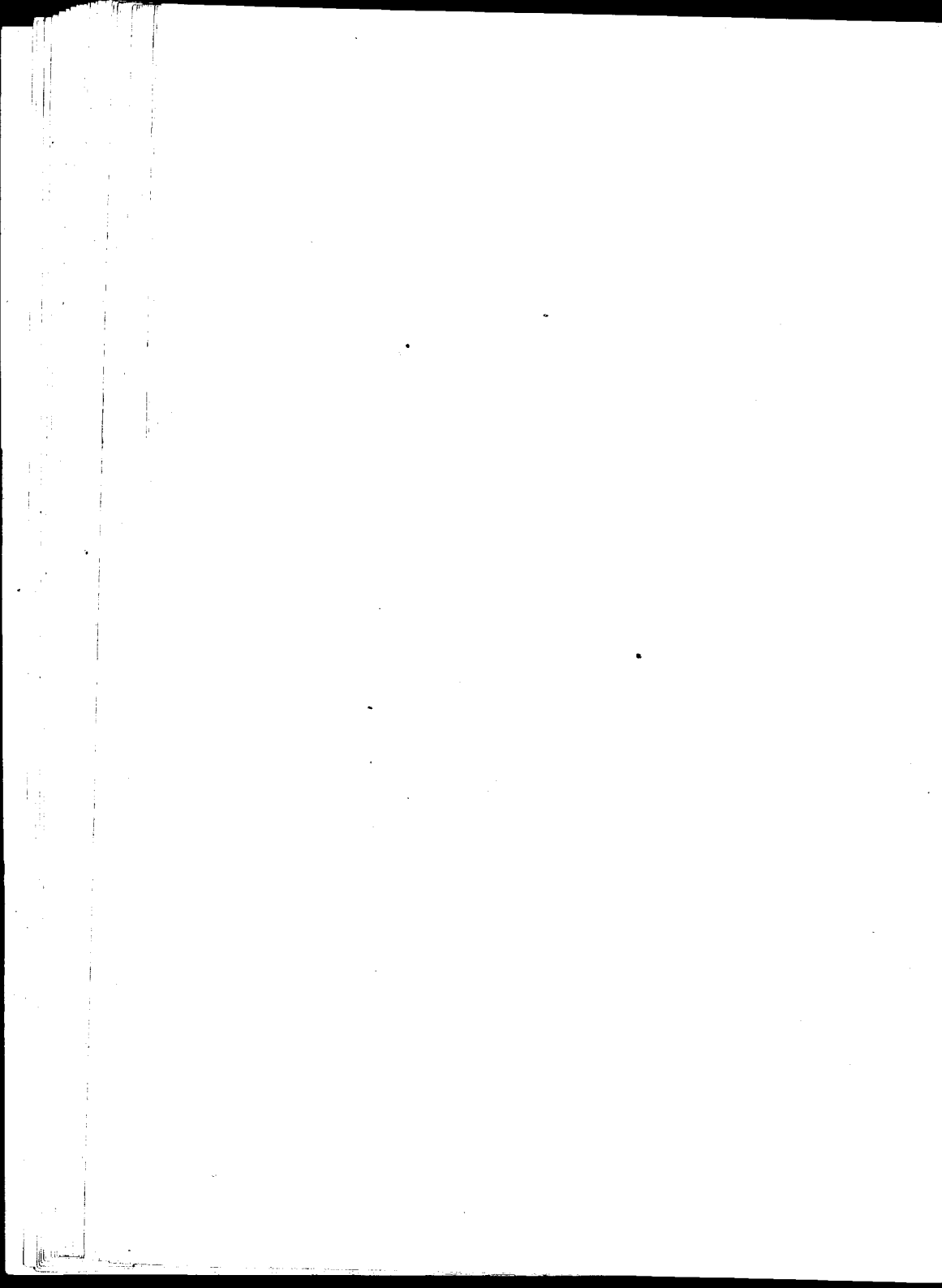
Nolf ha da­do del fenómeno una explicación bastante seductora. Considera que la salida de he­moglobina es una consecuencia, no del estallido del glóbulo, pero sí de una *permeabilización* de su pared a la hemoglobina, bajo la influencia de la hidrata­ción de dicha pared, y dice: “Normalmente la pa­red del hematíe es impermeable a la hemoglobina, pero si por adición de agua o por otros medios, se transforma el grado de hidratación, o la estruc­tura física o química de esta pared, esa imper­meabilidad puede fácilmente desaparecer, lo que provocará la difusión de la hemoglobina”. Nolf admite que la hidratación de la pared, en los casos de hemolisis, mediante el agua destilada, es produ­cida por la dilución exagerada del medio exterior. Pero no ha hecho más que aceptar para el agua des­tilada una hipótesis que se encuentra verificada por hechos establecidos en lo que concierne a la acción de otras sustancias. A medida que se haga el es­tudio de esas sustancias y que será objeto del si­guiente capítulo, se hará el exámen crítico de esa hipótesis, una vez estudiado detenidamente el modo de actuar de dichas sustancias.

Antes de entrar al estudio de esas sustancias es necesario acercarse a la hemolisis producida por el agua destilada, aquella que producen ciertas sus-

tancias no penetrantes, que destruyen a los glóbulos en soluciones acuosas, por no tratarse en realidad de verdaderas soluciones. Esas sustancias sobre las cuales Hedón ha llamado la atención, ven sus acciones neutralizadas por las soluciones isotónicas, aún mismo empleándolas en dosis extremadamente elevadas. Estas sustancias son los hidratos de carbono; dextrina, glicogeno, y los albuminoides: gelatina, etc. Todas estas sustancias son coloides.

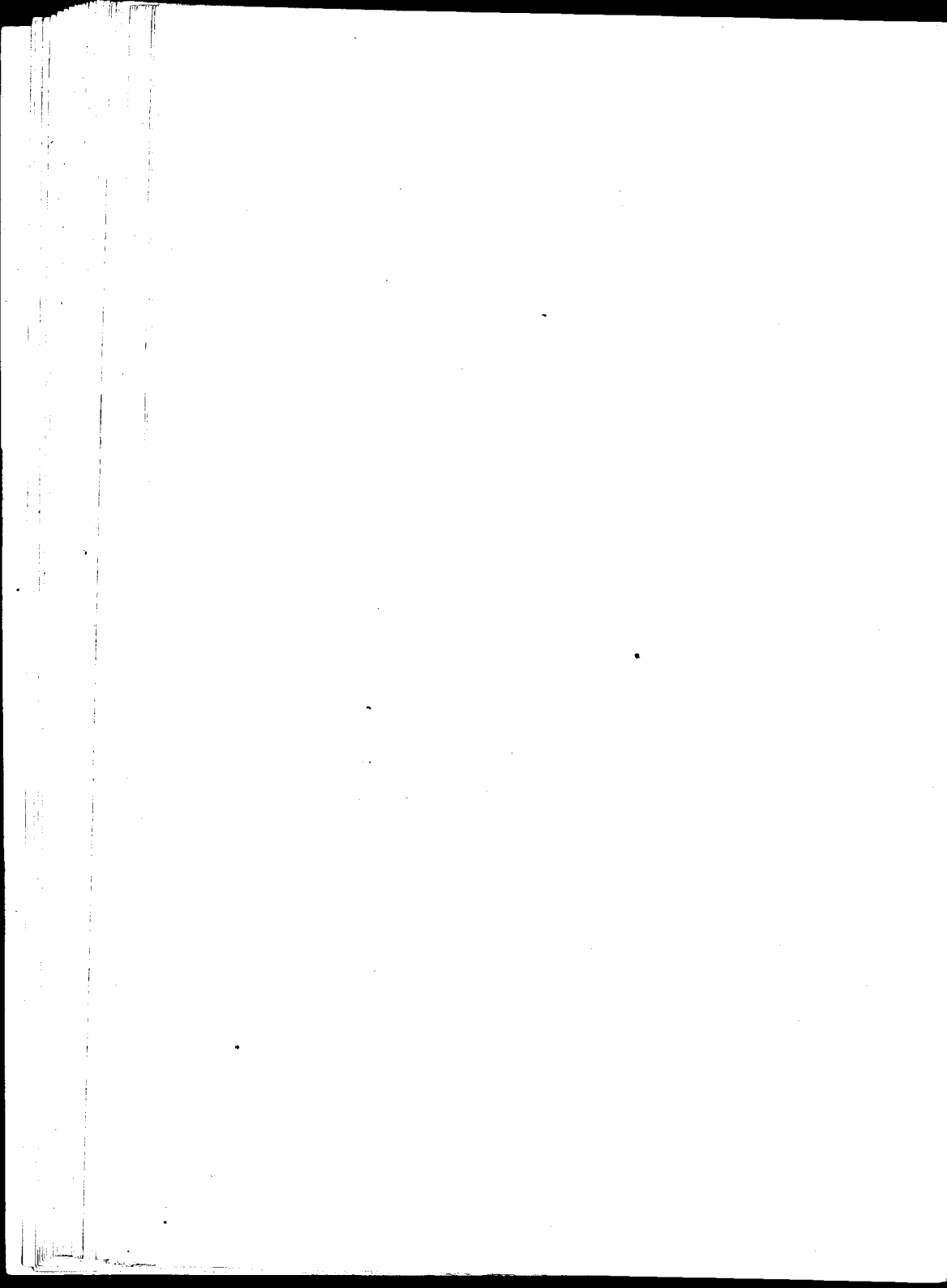
Hedón hace la siguiente interpretación de la acción de esas sustancias sobre los glóbulos rojos: "*Sus moléculas no suministran verdaderas soluciones*: se las puede representar como rodeados completamente de una envoltura de moléculas de agua. En esas condiciones, los glóbulos no llegan en contactos de ellas y son destruidos por el agua. Debe ser esto un hecho general para todas las sustancias coloides, de moléculas polímeras, de muchos de los albuminoides."





CAPITULO II

Hemolisis por agentes químicos



Las soluciones de sustancias químicas estudiadas en el capítulo precedente, gozan de poder hemolítico gracias a la débil concentración con que fueron empleadas. La dilución exagerada, debilitando en grado la tensión osmótica, permite la penetración del agua destilada al interior del hematíe, atravezando la pared protoplasmática. En estos casos es el agua destilada de las soluciones que desempeña el rol hemolítico.

Al lado de esas sustancias se encuentran otras, que destruyen los glóbulos rojos en toda concentración. Estas sustancias son: el *éter*, *cloroformo*, *glicerina*, *la úrea* y *ciertas sales amoniacaes*.

Parecen estas sustancias, hacer excepeión a las leyes de isotonía, establecidas por H. de Vries y Hamburger. Este último autor indicaba en su primer trabajo sobre "los coeficientes isotónicos y los glóbulos rojos" lo siguiente: "El método de los glóbulos rojos permite apreciar la tensión osmótica de las soluciones, pero solo de aquellas que

”no destruyen los hematíes en cualquier concentración: a esas soluciones pertenecen, las de sales amoniacaes, la glicerina, etc.”

Nuestros conocimientos isotónicos son entonces inaplicables a esas sustancias? O es necesario advertir en la acción de éstas un fenómeno tóxico, e invocar esa afinidad química que vendría a oscurecer los hechos? Nada hay de esto, la excepción es solo aparente. Los trabajos de Gryns, de Hedín y de Nolf lo demuestran.

Gryns, efectúa sus estudios sobre la *úrea* y el *cloruro de amonio*. La *úrea* tiene la propiedad de destruir los glóbulos rojos en cualquier grado de solución. Pero si a una solución de *úrea* se le agrega cloruro de sodio, en cantidad tal que la solución de ésta última sustancia, sea isotónica para los glóbulos, toda la acción nociva de la *úrea* es impedida. Es posible variar ésta experiencia de varias maneras, pero es mejor observar el procedimiento empleado por Gryns.

Hedín, mediante interesantes experiencias ha verificado esos hechos *in vivo*, al abordar los estudios sobre la acción diurética de ciertas sustancias químicas que, en soluciones acuosas, producían una destrucción globular y como consecuencia una hemoglobinuria intensa. Es posible inyectar por vía endovenosa una solución al 10 o 15 o/o en agua salada al 0.95 o/o sin determinar el más mínimo pa-

saje de la hemoglobina al suero. Lo mismo sucede con respecto a la glicerina.

Para poderse explicar esos hechos, mediante la teoría osmótica, habría que admitir o asimilar la urea a una sustancia cristaloides con respecto a la pared globular, es decir que sea susceptible de atravesarla.

Queda para demostrarse la penetración directa de la urea. Es lo que hizo Gryns, habiendo puesto en suspensión glóbulos rojos, en una solución isotónica de Na Cl conteniendo 10 o/o de urea, pudo después de centrifugar; dosar la urea en el líquido que sobrenadaba, lo mismo que en el depósito globular. La cantidad de urea era sensiblemente igual en los dos líquidos, lo que no puede darse una noción satisfactoria, sin admitir una repartición más o menos igual de la urea entre el suero artificial y los glóbulos. La misma experiencia fué repetida con cloruro de amonio, con resultados idénticos.

Sin hacer dosages directos, Gryns admite entonces que todas las sustancias que disuelven los glóbulos rojos en soluciones acuosas y son inactivas en las soluciones isotónicas de Na Cl, son penetrantes.

Fueron precisamente esas investigaciones que llevaron al mismo tiempo a Gryns, a demostrar la importancia de la disociación de los electrólitos en iones, en el fenómeno de la penetración del glóbulo

y admitir a la vez la acción antagonista de los iones no penetrantes, en presencia de los iones penetrantes.

A continuación reproducimos los cuadros de Gryns y de Hedín; el primero conteniendo los iones penetrante y no penetrantes y el segundo, enumerando las sustancias, antes las cuales los glóbulos son permeables, semipermeables e impermeables.

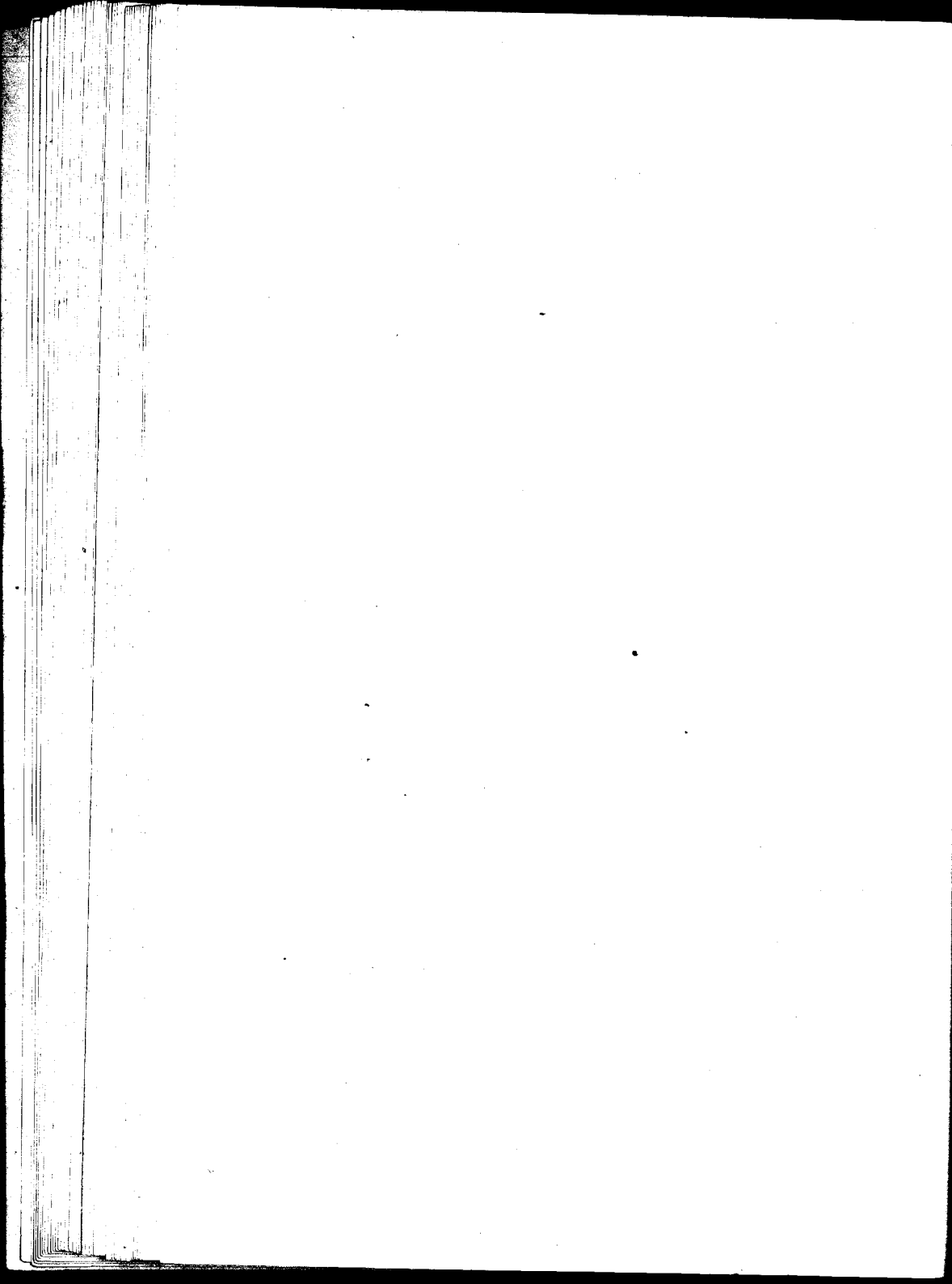
SEGÚN GRYNS

Iones no penetrantes	Iones penetrantes
K ⁺	AzH ⁺
Na ⁺	Cl ⁻
SO ⁴⁻	Br ⁻
AzO ²⁻	I ⁻

Los resultados de Gryns, han sido verificados, confirmados y en gran parte completados por Hedín, cuya memoria sobre la permeabilidad de los glóbulos rojos contiene investigaciones de un gran número de cuerpos químicos; los cuales se encuentran en el cuadro que se incluye a continuación:

SEGÚN HEDÍN

PERMEABILIDAD DE LOS GLÓRULOS ROJOS		
Impermeabilidad absoluta	Permeabilidad ligera variable según el título de la acción	Permeabilidad absoluta
Sacarosa, glicosa	Sales, potasio y sodio	Glicerina, glicol
Lactosa, galactosa	Sulfatos	Alcohol metílico
Arabinosa	de A_2H^+ de tri- metilamina y de etilamina	Alcohol etílico
Manita, adonita	Fosfato	Aldehidos de ácidos grasos
—	Sucinato	Eteres — acetonas
—	—	Cloral
—	—	Urea
—	—	Cloruro
—	—	Bromuro
—	—	de A_2H^+ de me- tilamina y eti- lamina, etc.
—	—	Nitrato
—	—	Oxalato



Tanto Hedín como Nolf, han demostrado experimentalmente la acción de la úrea y del cloruro de amonio. Poseen la propiedad común de penetrar al glóbulo y manifestando solo diferencias en la manera de actuar; siendo la segunda más nociva que la primera.

Hay que admitir entonces que el $\text{Az H}^4 \text{Cl}$ hace excepción a las leyes de la ósmosis; o admitir nuevamente un “poder tóxico”, específico, a ésta sustancia? Un exámen más atento de las experiencias ha permitido a Nolf responder en una forma negativa a ese interrogante.

Este autor observa con justa razón, que no se tiene en cuenta a la pared globular, en las apreciaciones del equilibrio osmótico, entre el glóbulo y el líquido que lo rodea. Tres sistemas de fuerzas atractivas del agua concurren a establecer ese equilibrio: el sistema *a*, constituido por las sustancias solubles del suero; el sistema *b* que no es otra cosa que el estroma globular; y el sistema *c* que comprenden las sustancias en solución en el jugo celular de los hematíes.

El sistema *b* puede ser modificado por hidratación. Pero ésta hidratación podrá operarse directamente, de una manera inmediata, bajo la influencia de la dilución exagerada, de una solución de sustancia no penetrante que constituya el medio externo *a* (caso de Na Cl , K Cl) en solución extendida; ya

sea indirectamente por intermedio de una sustancia penetrante ($\text{Az H}^+ \text{Cl}$) que modifica, impregnando, la pared protoplasmática y aumenta su fuerza atractiva para el agua.

Es ésta hidratación de la pared protoplasmática, que tendría por resultado modificar sus cualidades de permeabilidad, a punto de hacerla permeable a sustancias hasta ahora coloides, tales como la hemoglobina.

El estallido del glóbulo, no es entonces de imprescindible necesidad para que la salida de la hemoglobina se lleve a cabo, aún mismo en presencia del agua destilada. Esto es bajo el punto de vista teórico.

De los fenómenos interesantes, obtenidos por la experimentación, justifican la importancia que Nolf reconoce a la pared protoplasmática, en los intercambios entre ambos medios: interno y externo.

Se han tratado anteriormente los hechos en pro de la no ruptura del glóbulo. Las simples experiencias realizadas por Bordet y por Nolf,—las que se citarán a continuación— demuestran que “consistencia y volumen del estroma, son directamente y fuertemente influenciadas por el valor de la tensión osmótica del líquido que los rodea”.

Experiencia de Bordet. — Se toman 3 c.c. de sangre defibrinada de conejo, previamente lavado

con solución isotónica de CINa al 8 o|oo. Se agrega a esos 3 c.c. de sangre, 15 c.c. de agua destilada, obtenemos así un líquido de aspecto muy rojo y más o menos transparente. Observando al microscopio ese líquido, se distinguen los estromas a penas visibles, de aspecto translúcidos, regularmente redondeados y que parecen haberse ingurgitado de agua.

Por otra parte se toma 1 c.c. de solución fisiológica al cual agremanos 0.0975 gramos de NaCl., agregando esta solución a la mezcla anterior, tiene por objeto de dar al líquido rojo un grado de concentración en sales iguales a la del agua fisiológica 0 gs. 65 o|o. Se constatará que la adición del agua salada tiene por objeto enturbiar inmediatamente el líquido rojo que era de aspecto casi transparente. El enturbiamiento se aglomera inmediatamente en copos blancos, que paulatinamente se depositan al fondo del tubo, mientras que la parte superior del líquido toma un aspecto límpido. El exámen microscópico de los copos, demuestran estar constituidos por estromas fuertemente aglutinados. Esos estromas se presentan muy modificados. De transparente y redondeados que eran, se presentan visibles y al mismo tiempo aplanados en discos delgados. Parecen haber sufrido una verdadera plasmolosis”.

Los fenómenos se presentan como si los estromas fuesen verdaderas membranas de envoltura de los glóbulos, verdaderos sacos tabicados susceptibles

de entrar en turgescencia en los líquidos pobres de sales, de retraerse enseguida y de aplanarse bajo la influencia de soluciones concentradas.

Experiencia de Nolf. — Después de producir mediante el H_2O , la hemolisis de los glóbulos rojos de pájaros y, de constatar que los estromas forman una masa viscosa ocupando el $\frac{1}{3}$ o la mitad de la columna de líquido, Nolf agrega a ese líquido cloruro de sodio, hasta que tenga un título de 1 o/0 y centrifuga. “Se asiste entonces a una verdadera desaparición de los estromas, que solo forman en el fondo del tubo, un pequeño depósito, delgado; de un volumen notablemente inferior, al que ocupaban los glóbulos intactos en una solución del mismo valor osmótico”.

Para Nolf, el $AzH_4 Cl$ actúa impregnando el estroma globular y aumentando su afinidad para el H_2O , afinidad tal, que “en un medio isotónico, llega a un grado de hidratación, que no podría actuar sin el concurso del cloruro de amonio, sino mediante una fuerte dilución del medio”. Aquí, no hay excepción a las leyes que rigen la teoría osmótica.

De todo esto se deduce que los agentes globulizantes, pueden dividirse en dos categorías:

- 1.° Agentes penetrantes, en donde las soluciones, por acción misma, adquieren una tensión os-

mótica sumamente débil o nula, sin que haya aumento notable de la afinidad del estroma para el agua destilada: úrea, alcohol, éter en débil concentración. Sus soluciones tienen un mismo poder destructor que un volumen igual de agua destilada.

2.º Agentes penetrantes, que aumentan la avidez del estroma para el agua destilada, entre estos tenemos: el alcohol, cloruro de amonio y éter, en fuertes concentración. Manifiestan un poder globulizantes superior a los agentes de la primera categoría, puesto que les es posible provocar aún mismo en soluciones isotónicas, una verdadera hidratación del estroma globular.

En el curso de este capítulo se habló de la acción química de algunos de los agentes; cuyo estudio constituye este capítulo.

Si un argumento se puede invocar a favor de esa acción química es el que nos proporciona, la disolución de los estromas por el $\text{AzH}^4 \text{Cl}$ y por otras sustancias del mismo orden.

El agua destilada, como lo hemos visto, actúa solo separando la hemoglobina de su estroma. El cloruro de amonio, la úrea, el éter, el alcohol, etc.; al cabo de cierto tiempo terminan por una disolución total de todos los elementos de glóbulo - rojo.

Este fenómeno de la disolución total, puede concebirse sin necesidad de invocar una acción quí-

mica: el exámen analítico del líquido después de esa disolución ,no revela la presencia de algún cuerpo nuevo; lo que sería necesario encontrar, para poder caracterizar una reacción química.

Más seductora y legítima es la explicación de Nolf, la cual no es más que la interpretación del fenómeno banal de la disolución de una sal o de azúcar, en el agua destilada. Relata el fenómeno y lo interpreta como sigue: “La fuerza que se opone a la disolución total, es la atracción de las moléculas del estroma entre sí, atracción más fuerte de esas mismas moléculas que para el agua que las rodea. Ahora si se admite que la imbibición del estroma por los agentes hemolíticos, tiene por consecuencia, el aumento de la afinidad para el agua, se hace muy comprensible que para una cantidad dada del título del líquido en substancia hemolítica; la afinidad de las moléculas del estroma para el agua destilada, sea aumentada a tal punto, de provocar la separación de los glóbulos congéneros, lo que conduce a la disolución del complejo globular.

Acción hemolítica de la bilis y de las sales biliares. — La acción nociva de la *bilis in vitro* para los glóbulos rojos, se conoce desde hace mucho tiempo. Este líquido, tiene una acción hemolítica intensa, bastando pequeñas dosis para producir la destrucción total de los glóbulos rojos, aún encon-

trándose estos en sus respectivas soluciones isotónicas de cloruro de sodio.

Pero la bilis a pesar de su nocividad, es aún incomparablemente menos activa que las sales que engendra y en particular el taurocolato de sodio.

La bilis de buey manifiesta su acción hemolítica para los hematíes de carnero a dosis de 1|40 — en solución del Cl Na isotónica. La bilis agregada a soluciones de ClNa en proporciones de 1|20, actúa en la solución de Cl Na a 0.60 o/o.

El taurocolato de sodio, actúa a dosis mucho menores. Hedín ya había notado que en una solución de Na Cl al 0.95 o/o o sea al 9.5 o/o, el taurocolato de sodio empieza a producir hemólisis en dilución al 1|600.

La acción hemolítica de las sales de sodio de los ácidos biliares, (pueden, ante la primera observación) parecer opuestos a los resultados obtenidos por Grynys y por Hedín. Estos autores no aceptan acaso la pared globular impermeable o muy poco permeable a los iones K-| y Na-|?

Nolf, piensa que hay motivo de atribuir la acción nociva de las sales biliares, no a los iones, que provienen de la disociación electrolítica, pero si a las *moléculas neutras no disociadas*, cuyas propiedades penetrantes, como se ha visto, son independientes de aquella de los iones.

Nolf demuestra indirectamente la importancia

de esas moléculas neutras, mediante la constatación de las observaciones experimentales siguientes.

Habiendo hecho actuar bilis de buey en diversas soluciones salinas, en presencia de sangre de conejo pudo deducir los siguientes resultados:

1.º La disolución de los hematíes por la bilis, es tanto más fácil y tanto mayor, mientras la *concentración salina es mayor*. Sabemos que las soluciones concentradas, contienen una cierta cantidad de moléculas no disociadas y que por otra parte la unión a una solución, de una sal disociada de una substancia igualmente disociable, teniendo un ión común con la sal, produce una disminución de la disociación de este.

2.º A igualdad de concentración molecular, la hemólisis producida por la bilis se efectúa con mayor facilidad en las soluciones de las sales de los metales alcalino-térreos, que en las soluciones de las sales de los metales alcalinos. De una manera general las sales de los metales alcalino-térreos son disociadas a un grado menor que la de los metales alcalinos.

Así se explica por la existencia en las soluciones, de una gran cantidad de moléculas neutras no disociadas, la acción nociva de las sales alcalinas fijas de los ácidos biliares. Aún aquí no hay caso de excepción a las leyes de la teoría osmótica. Las le-

yes a las cuales están sometidas, la disolución de las sales, nos dan la clave de un fenómeno que parece a visu paradójal.

Acción hemolisante de los glucosidos. — Hay un grupo numeroso de cuerpos cuya acción hemolítica, ha sido objeto de inmensas experiencias e investigaciones por parte de Hedón. Creo sean de utilidad exponer brevemente esas importantes investigaciones, que tienden a demostrar, el rol tan importante del estroma globular en el proceso hemolítico.

Estos cuerpos pertenecen al grupo de los glucosidos; estos son: la *solanina*, la *saponina*, la *digitalina*, la *ciclanina*, etc. El poder hemolítico es de acción rápida y extremadamente activo. En una solución isotónica de cloruro de sodio, esa acción se manifiesta tan solo en el espacio de algunos segundos. Es interesante advertir que el suero del individuo, del cual se hemolisan los glóbulos, o el suero de otro individuo de la misma especie o cercana, goza de una acción protectora contra la acción de los glucosidos: impiden al agente globulizante de actuar a dosis superiores, de aquellas que laceran la sangre instantáneamente en las soluciones salinas.

Hedón pregunta si no sería conveniente atribuir esa acción protectora del suero, a la existencia de sustancias ácidas. Uno de esos cuerpos, la so-

lanina, tiene una débil acción sobre los glóbulos sensibilizados por los ácidos libres, y por acción de las sales ácidas.

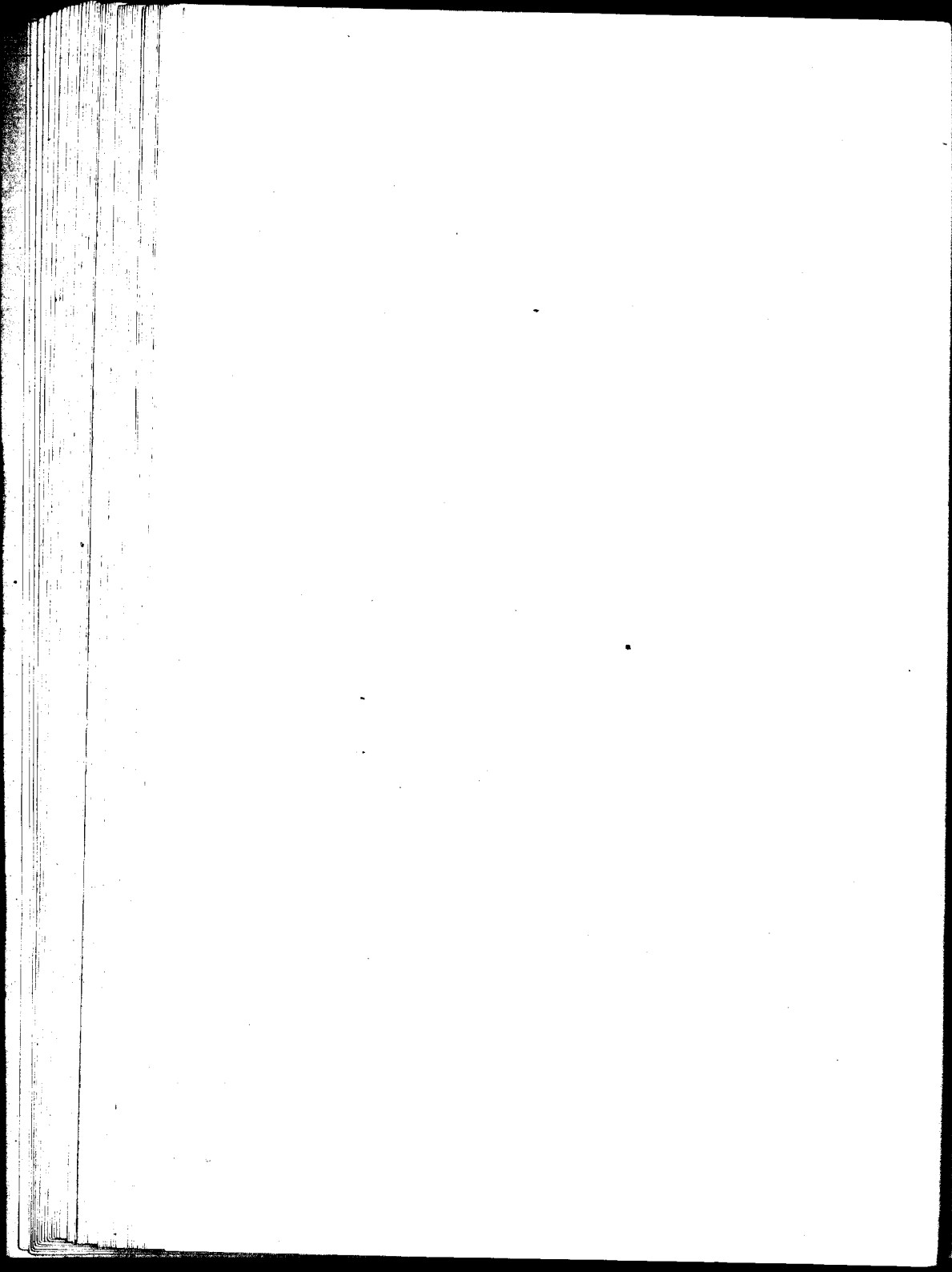
Los álcalis y las sales alcalinas, tienen por el contrario el rol de favorecer las reacciones. Es de notarse que las acciones antihemolíticas del ácido, proviene sin duda alguna, de una modificación de la sustancia globular. En efecto los glóbulos puestos en contacto con un ácido, o de una sal ácida, como lo es el fosfato nonobásico de sodio, centrifugados y lavados varias veces, mantienen la propiedad de resistir en un medio salino a las dosis hemolisantes de solanina.

A más es de notarse que los ácidos no ejercen ninguna acción protectriz contra los otros glucosidos. Existe este otro hecho: el suero libertado de sus sales por diálisis, ejerce aún su acción inmunitante.

Hedón piensa que el poder "antitóxico" del suero debe ser suministrado por los albuminoides.

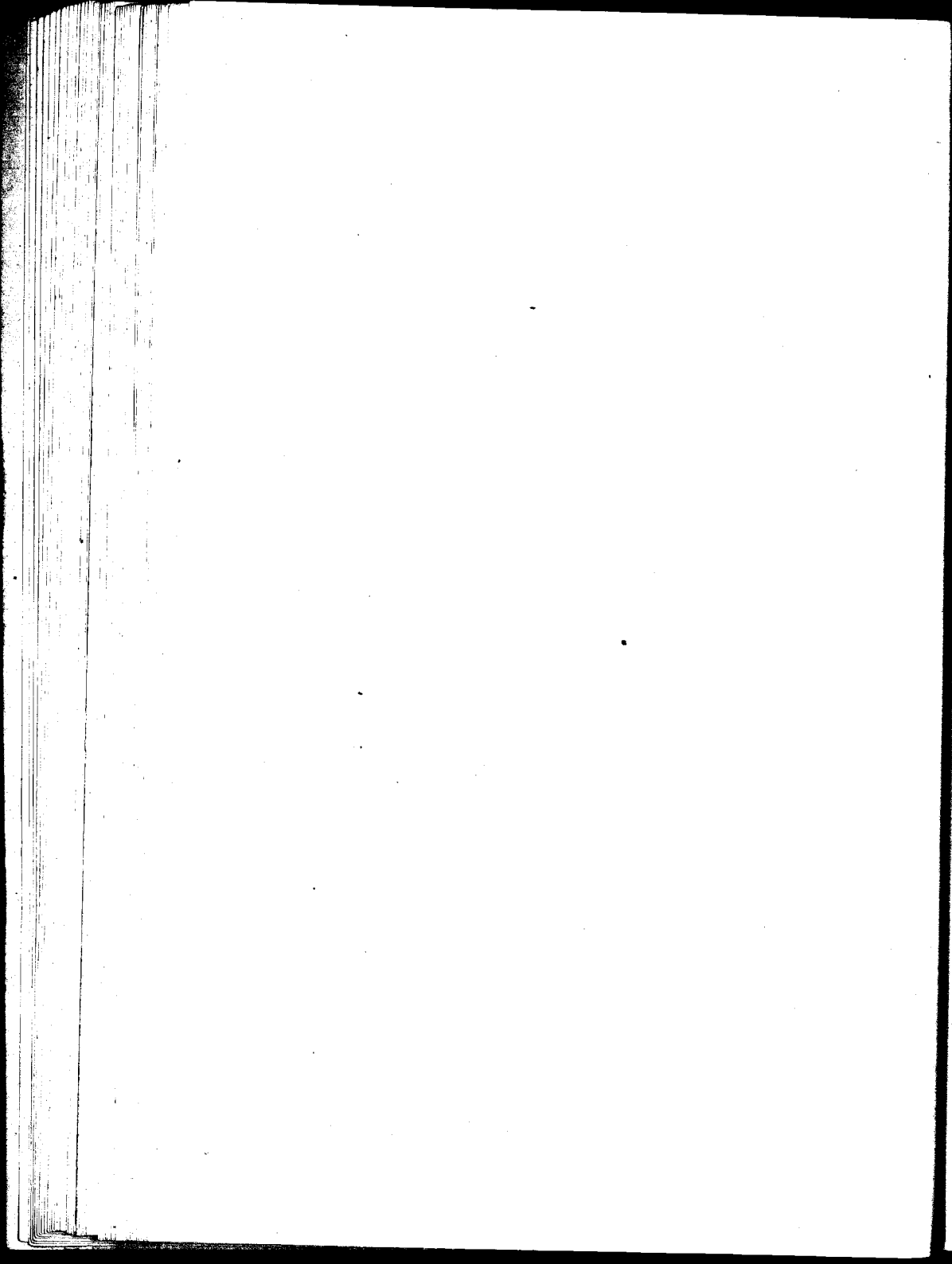
J. Rehns y L. Roux, en sus investigaciones llegan a la conclusión; de que los estromas globulares fijan enérgicamente los glucosidos y no fijan una cantidad indefinida; tienen una capacidad máxima que no pueden sobrepasarla. La rapidez de acción de los glucosidos, parece variar con la muestra de sangre empleada; por otra parte, si cada glucosido tiene una acción más o menos fuerte y más o menos

mente actuarán con una sinergia perfecta: sus acciones se suman por completo.



CAPITULO III

Hemolisis por agentes físicos



Quedan aún otros agentes, de orden físico que tienen acción hemolítica sobre los hematíes. Estos serán tratados en una forma breve a continuación:

1.º *Calor y frío.* — La elevación de temperatura de la sangre por encima de 65° a 68° tiene por consecuencia la disolución de los glóbulos rojos, por fusión de los lipoides de la membrana. La acción del frío tiene un efecto hemolítico sobre los hematíes. Al helarse el agua y estancarse los cristales de hielo formados, el agua obra aunque por poco tiempo sobre los glóbulos y los hace estallar por consecuencia de la diferente presión osmótica.

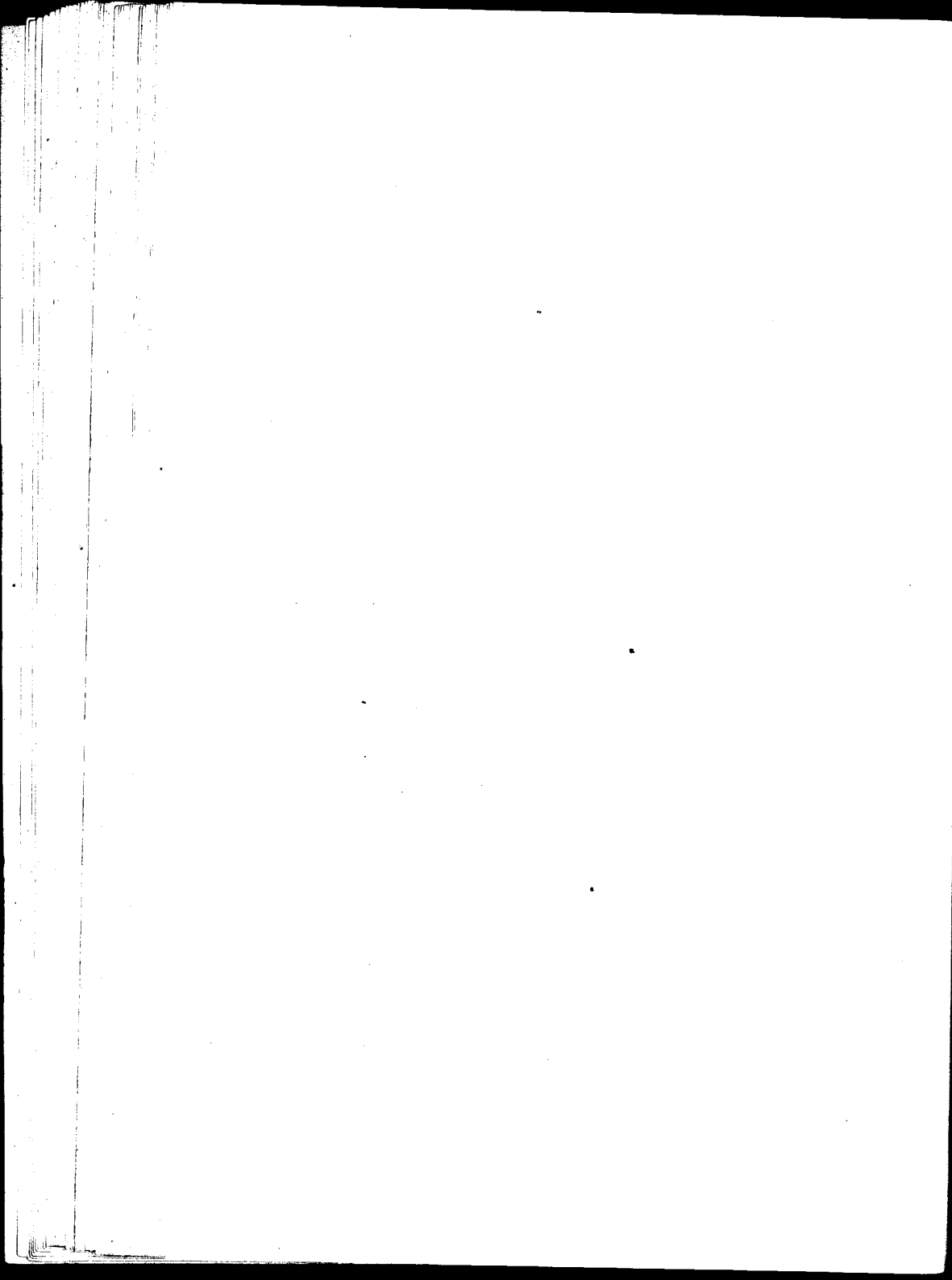
2.º *Influjos eléctricos.* — Los influjos eléctricos disuelven los glóbulos rojos. Las corrientes constantes, las de inducción y las alternas, obran de preferencia por calentamiento y descomposición electrolítica. Las descargas de las bolellas de Leyden y

de los condensadores, actúan en cambio sobre los glóbulos rojos por un influjo eléctrico no bien conocido. Esta acción puede impedirse por la adición de soluciones salinas, pero no por la de soluciones azucaradas.

CAPITULO IV



Hemolisinas



Hay un grupo de sustancias hemolíticas, llamadas *hemolisinas*, ocupan estas un lugar especial, frente a los agentes mencionados hasta ahora. Se da el nombre de hemolisinas, a sustancias-receptores de tercer orden—que tienen la propiedad de provocar la disolución globular y la difusión de la hemoglobina en el plasma sanguíneo. Estos cuerpos actúan sobre el hematíe, alterando su estroma globular, que podemos considerarlo como ya se ha descrito, de una infinidad de pequeños tabiques membranosos, de mallas finísimas; cuando estos tabiques o red es destruida por las hemolisinas, la hemoglobina puesta en libertad, entra en disolución en el plasma. A consecuencia de este fenómeno, la sangre toma un aspecto límpido y transparente.

En el suero humano, como en el de los animales, hay varias clases de hemolisinas, como puede verse por el cuadro sinóptico, a continuación:

Aceptando el concepto de Nolf, la cuestión queda circunscripta en saber como se produce el desequilibrio que considera de imprescindible necesidad para que se realice el fenómeno hemolítico.

Muchos son los autores que hacen intervenir en este proceso la acción osmótica; en cambio otros aceptan la intervención de dos sustancias, la *alexina* de Buchner, *citasa* de Metchnikoff o llamado *complemento* por Ehrlich; y la otra substancia sensibilizadora, llamada *amboceptor* por Ehrlich y *fixador* por Buchner. A fin de evitar tanta nomenclatura, haremos uso de las denominaciones adoptadas por Ehrlich: amboceptor y complemento. Estas dos sustancias forman parte de la sangre, encontrándose únicamente en el suero.

Los autores partidarios de la acción osmótica, creen que la concentración molecular de los sueros sanguíneos de una misma especie, es siempre igual. Ahora bien, sabemos por fisiología que dos líquidos de diferente concentración molecular separados por una pared semipermeable, se establece entre esos dos líquidos corrientes osmóticas, hasta llegar a tener estos el mismo índice molecular.

Esto mismo sucedería cuando en presencia de glóbulos rojos de una especie fueran puestos en presencia de un suero sanguíneo de distinta procedencia, en cuyos casos habrían también corrientes osmóticas, líquidos del suero pasarían al glóbulo,

hasta tener la misma concentración. Estas corrientes verdaderos intercambios entren los elementos constitutivos, provocarían la alteración del hematíe y, como consecuencia la pérdida de su hemoglobina.

Esto sería muy aceptable si el líquido hemolítico fuera agua destilada en exceso, punto ya tratado en el primer capítulo; pero tratándose de suero sanguíneo; cuya constitución es tan distinta y tan compleja con relación al agua, es evidente que el proceso debe ser indiscutiblemente otro.

Como se ve, esta teoría, aparentemente satisfactoria, es sujeta a serias objeciones.

Ya Baumgarten, en sus numerosos estudios sobre el poder bactericida de los sueros, sostenía que ese poder bactericida era debido, a verdaderas modificaciones osmóticas, este parecer no fué aceptado, porque por él no se explicaba en forma satisfactoria ciertos fenómenos y posteriormente las investigaciones realizadas en ese sentido, evidenciaron su inexactitud.

Lo mismo pasa con las hemolisinas. No es posible evidenciar que la simple diferencia de concentración molecular, que nunca puede ser muy grande entre los sueros, sea lo suficiente para provocar hemolisis tan intensas, como las que se observan con una abundante hemoglobinuria que implica de hecho una previa hemoglobinemia.

Si las leyes que rigen la acción osmótica pue-

den explicar algo *in vitro*; resultan insuficientes, cuando se practica *in vivo*, mediante inyecciones en las venas del animal o por vía subcutánea de un suero de especie distinta, reacciona el organismo en forma idéntica, absorbiéndose o dando agua al líquido inyectado y produciéndose en ambos casos igualmente hemolisis.

Además esta teoría, tan en voga en una época ya lejana, es de por sí insuficiente para explicar la inmunización que se obtiene vacunando con dosis sucesivas y crecientes; ni explica mucho menos, la formación de precipitinas específicas, reacciones todas estas, que demuestran una semejanza con las producidas por las bacterias. Tampoco es explicable por esta teoría, la causa del mayor poder hemolítico de sueros inyectados a animales de especie superior a la que aquellos pertenecen.

Todo esto hace suponer que además de las causas físicas, hay principalmente influencias de otro orden, probablemente de orden químico, tal vez las alteraciones de la afinidad que suponía Nolf.

Todo lo enunciado es más que suficiente para deducir lo poco satisfactoria de la teoría osmótica.

La segunda teoría, explica satisfactoriamente la naturaleza y acción de las hemolisinas.

Bordet en 1898 y desde entonces muchos experimentadores son los que sostienen la acción de una substancia normal en la sangre, la *alexina* que Ehr-

lich denomina *complemento* y de otra específica, la *sensibilizatriz* o *amboceptor* de Ehrlich. La primera substancia se encuentra en todo suero y cabe a Buchner el honor de ser el primero que la estudió, haciendo de ella un estudio completo.

Mediante el estudio de las hemolisinas, es por medio del cual, Ehrlich y sus discípulos, llegaron a concebir la teoría de las cadenas laterales.

La teoría de Ehrlich, reposa sobre una ley fisiológica; la hiper regeneración establecida por Weigert, y sobre la analogía que existe entre la asimilación de las materias nutritivas y los fenómenos de la inmunización. Como las materias nutritivas, las substancias tóxicas son asimiladas por ciertos grupos celulares.

La formación y efecto de las antitoxinas se explican perfectamente por esta teoría de las cadenas laterales, la cual es también de fundamental importancia para comprender el efecto de las hemolisinas y antihemolisinas. Según Ehrlich, no constituye, bajo el punto de vista funcional, un todo homogéneo, admite por el contrario, su composición por cierto número de moléculas diferenciadas; donde cada una se compone de un *núcleo funcional* o *centro vital* y de *cadenas laterales*, que asientan en este. Las *cadenas laterales* o *receptores*, sirven a las funciones aisladas de la célula y sobre todo a su nutrición. Estos son complejos atómicos en la molécula

del protoplasma, los cuales, por consecuencia de su configuración química, están en condiciones de fijar otras sustancias: por ejemplo materiales nutritivos; pero también de combinar químicamente las toxinas. Los grupos atómicos de los receptores, se combinan con determinados grupos atómicos de la sustancia alimenticia o de las toxinas, que reciben el nombre de *grupos haptóforos*. La combinación entre éstos y los correspondientes receptores, es la condición previa para el influjo mútuo; como veremos luego al ocuparnos sobre la naturaleza y valor fisiológico de las hemolisinas.

Por lo tanto, si una toxina introducida en un organismo, no encuentra receptores apropiados para ella, puede no producir efecto tóxico sobre el organismo, esta condición especial del organismo, ante dicha toxina, de presentarse *immune*, se dice que hay una *inmunidad natural*.

En la toxina, han de diferenciarse rigurosamente de los grupos haptóforos, que solamente intervienen en la unión con el receptor de la célula, otros grupos que, una vez efectuada la combinación ejercen el efecto tóxico especial, a estos se les conoce con el nombre de *grupos toxóforos*.

Si se introduce una toxina en un organismo sensible a dicha toxina y en cantidades insuficiente para determinar la muerte del sujeto; se combina con los receptores adaptables de las células. Por

este hecho, los receptores se anulan para cumplir otros fenómenos, como los de combinar sustancias nutritivas; entonces el núcleo productor o centro vital, forma nuevos receptores en sustitución de aquellos. Pero esta neoformación excede a la cantidad precisa de remplazo y resulta una superproducción de receptores, que no encuentran sitio en el protoplasma y desprendiéndose de él pasan a la sangre. Estos receptores que se encuentran libres en el torrente circulatorio son las *antitoxinas*; pueden combinar las toxinas por medio de grupos haptóforos, y por este medio apartarlas del protoplasma; este hecho constituye lo que se conoce con el nombre de *inmunidad artificial*. Tenemos entonces que los mismos cuerpos que constituyen la condición precisa del efecto tóxico mientras asientan en el protoplasma como receptores, cuando se encuentran libres en la sangre son la causa del efecto anti-tóxico.

Según esta teoría, el efecto de las hemolisinas se produce lo mismo que el de las toxinas. Los globulos rojos tienen receptores que se combinan con los grupos haptóforos de las hemolisinas produciendo así, su efecto hemolítico sobre los hematies.

Antes de dar comienzo al estudio en particular de las hemolisinas y del poder hemolítico de los sueros, creo conveniente dedicar alguna atención so-

bre la naturaleza y el valor fisiológico de las hemolisinas.

Como sabemos las hemolisinas son sustancias que no solo se producen al estado patológico, ellas se forman y actúan en condiciones fisiológicas, actuando sobre los hemáticos y leucocitos, impresionando a estas células sanguíneas, haciendo sentir igualmente su acción sobre la citopoyese, hematopoyese y leucopoyese.

Como anteriormente se ha dicho la teoría de Ehrlich es más satisfactoria, puesto que demuestra e interpreta, tanto el rol como la acción de las hemolisinas; se considera generalmente bajo el nombre de hemolisinas solo a dos sustancias: el amboceptor, cuerpo siempre específico y el complemento que se encuentra siempre en todos los sueros. Estas dos sustancias o cuerpos provocan muy fácilmente la acción hemolítica sobre los glóbulos rojos, tanto *in vivo* como *in vitro* y es un hecho verdadero que ellas constituyen las sustancias hemolisantes propiamente dichas. Pero a veces designamos las hemolisinas bajo el nombre de anticuerpos, antígenos, etc., y bajo el primer vocablo tan general viene a colocarse, no tan solamente el amboceptor, sino también las aglutininas y las antitoxinas específicas.

Todas estas sustancias, ante un examen atento, surge que no son anticuerpos, pero sí citobióti-

neas o hemobiotíneas, destinada, como muy bien dice G. Froin, a la destrucción de células sanguíneas, facilitar su vida evolutiva: su génesis, su vida y su muerte. Tal sería la razón de ser de sus existencias bajo el punto de vista fisiológico.

Es indudable que para llegar a esa concepción es necesario recurrir a los numerosos hechos establecidos con respecto a las hemolisinas, como asimismo a los hechos que nos proporciona la física y la química.

Desde ya es con la ayuda de una ciencia nueva, la físico-química, que sólo nos puede hacer comprender las acciones biológicas, tan variables y tan opuestas, realizadas *in vivo* e *in vitro*, bajo la influencia de las hemobiotíneas.

Se hace necesario admitir que esos cuerpos se encuentran al estado coloidal en el suero sanguíneo, se encuentran más o menos adherente los unos a los otros, que constituyen un complejo susceptible de ser disociado.

En el curso de las numerosas experiencias efectuadas sobre la hemólisis *in vivo*, en conejos especialmente, hemos podido constatar tres fenómenos primordiales, fenómenos también constatados por M. G. Froin, cuyo conocimiento es absolutamente necesario para comprender la vida evolutiva de las células sanguíneas.

1.° Se ha puesto fuera de duda, por la consta-

tación del fenómeno de la globulolisis *in vivo*, que el hematíe está constituido — punto que arriba de nuevo por ser de suma importancia para las demostraciones ulteriores — por múltiples cavidades, formando innumerables pequeñas vesículas cerradas. G. Froin dice: “que podría admitirse “constituido el hematíe por pequeñas vesículas; “adostas de una multitud de partículas elementales proteo-hemoglóbicas, susceptibles de ser separadas las unas de las otras, sin difusión de la “hemoglobina”.

2.º Existe indiscutiblemente una toxina hemática. Esta toxina determina fenómenos de intoxicación muy netos, esto podemos observarlo en el transcurso de ciertos estados, como por ejemplo en el curso de las hemorragias meníngeas y de las hematomas bruscas intra y extravasculares. Esta toxina ha sido, durante mucho tiempo, desconocida, porque es perfectamente neutralizada por una antitoxina hemática y por consiguiente específica.

3.º En los transcurros de los procesos hemolíticos hemos comprobado la actuación de diversos leucocitos sobre la hemolisis, y existe una *leucocitosis hematólitica*. Con los polinucleares neutrófilos, la hematomas es rápida, en cambio con los plinucleares eusínófilos, la hematomas es lenta o detenida. En cuanto a la acción o influencia de los leucocitos sobre el proceso de la hemolisis, no está aún bien

dilucidado, pero su presencia en un foco hematológico coincide con el fenómeno de la hemolisis.

G. Froin dice en su trabajo lo siguiente: “Todo
“ una serie de hechos y de experiencias me han he-
“ cho admitir que el plasma sanguíneo posee la
“ función de transformar físicamente la toxina he-
“ mática en antitoxina, aglutinas y sensibilizatriz
“ específica. Estos cuatro cuerpos se adhieren los
“ unos a los otros en un cuerpo complejo, que va a
“ fijarse sobre los hematíes para la realización de
“ hematopoyesis y de la hemolisis”.

Según lo transcripto, la aglutina aseguraría la cohesión y la aglomeración de las cavidades constitutivas del estroma globular, o de las partículas elementales que también acepta Froin para el hematíe. El amboceptor y la toxina obran manteniendo la excitación que por medio del fenómeno de la nutrición, permite al elemento figurado edificarse, desenvolverse y funcionar. La antitoxina formada impide las acciones brutales y antibiológicas de las sustancias aisladas, tal como se las observa operando *in vitro*.

Destruyendo todas esas sustancias específicas del complejo, salvo la toxina hemática, los fermentos leucocitarios aseguran la disociación del hematíe por la toxina del complejo: es una auto-hemolisis. Pero los elementos químicos no específicos que constituyen al glóbulo rojo y que se disuelven: los pro-

teidos, los lipoides, la hemoglobina, etc., son desintegrados o digeridos en el plasma sanguíneo por los fermentos de orden leucocitarios.

El conocimiento de estos hechos y su aplicación al estudio de la vida de la sangre, mediante el auxilio de la físico-química, demuestra la gran importancia de la fisiología y de la patología hémoro-celulares, de ese tejido tan particular que se denomina sangre.

Sobre el glóbulo rojo actúa constantemente una fuerza que mantiene la cohesión y la verdadera aglomeración de sus partes elementales constituyentes: el substratum de esa fuerza adhesiva está representada por la aglutinina.

En cuanto a la energía específica llevada al elemento celular para su edificación progresiva, su destrucción, su funcionamiento y su nutrición, ella proviene de la toxina, donde el poder citopoyético y citolítico es activado, como ya se dijo, por el amboceptor o sensibilizatriz y detenido o refrenado por la antitoxina que lo anula.

Bajo ese punto de vista fisiológico se debe considerar la toxina hemática como una toxina, es necesario saber que ella es creada por la célula, que es la que la produce, a fin de asegurar la perfección de su vida evolutiva y funcional. Bajo el punto de vista de la naturaleza íntima de los fenómenos, es una citobiotina.

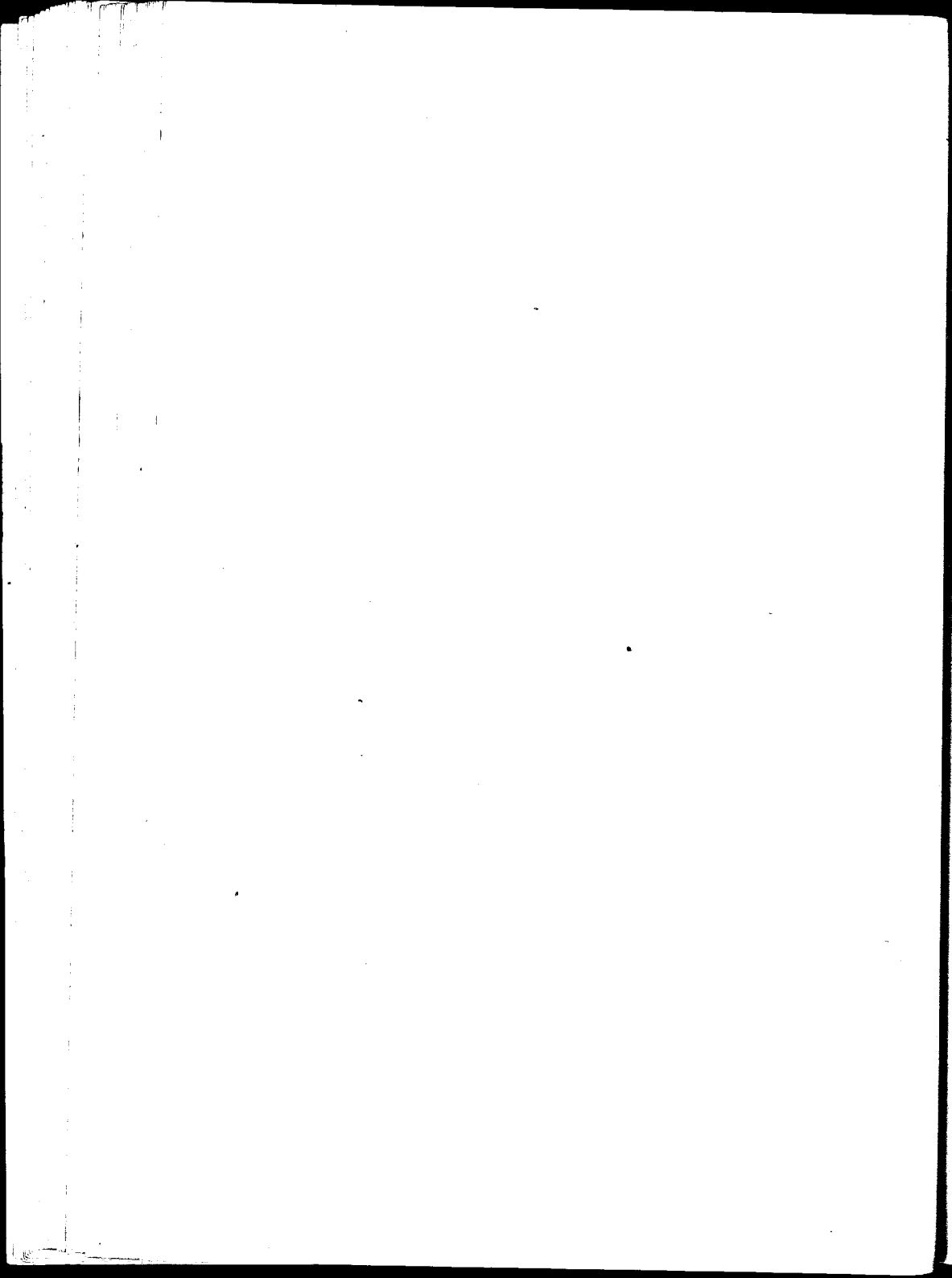
Estas nociones permiten hacer un estudio de la sangre al estado dinámico. Hasta el presente siempre se ha observado este tejido al estado estático. Las células que lo componen se encuentran en un estado de constante evolución, y sus funciones son íntimamente solidarias de la perfección de esa vida evolutiva. La fisiología y la patología de la sangre son verdaderamente incomprensibles cuando nos concretamos puramente a constataciones morfológicas o citológicas. Con los estados bio-evolutivos y sus regulaciones constantes y uniformes por los cuerpos específicos, las citobiotinas, vemos al tejido sanguíneo bajo cierto aspecto que permite comprender las acciones de orden fisiológico y patológico.

ANTIHEMOLISINAS

Por inmunización con suero hemolítico pueden enjendrarse *antihemolisinas*, que paralizan el efecto hemolítico de las *hemolisinas*.

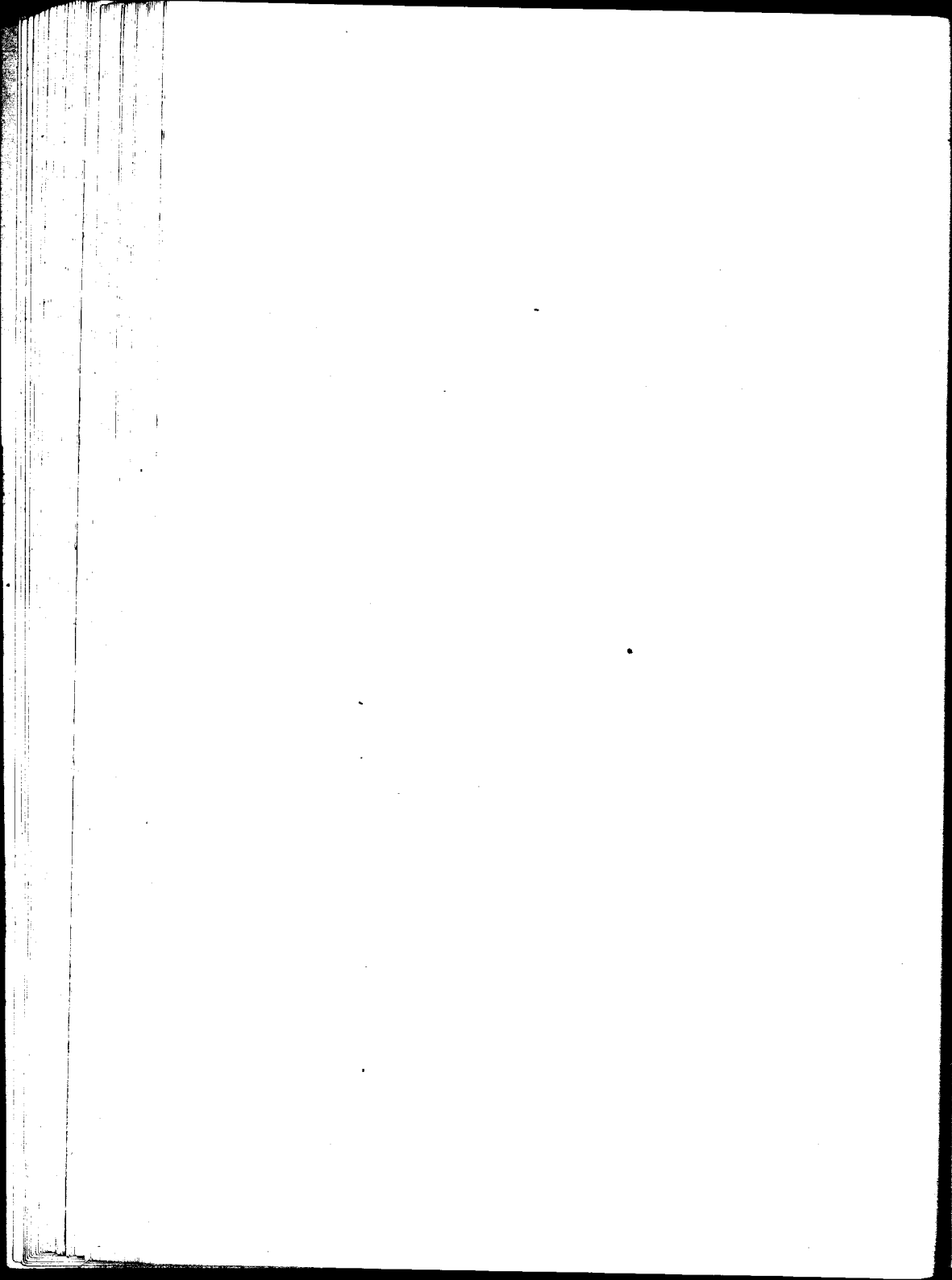
Como las hemolisinas, consta de amboceptor y complemento, los cuales tienen tres grupos haptóforos, dos en el amboceptor y uno en el complemento; pueden imaginarse tres distintos anticuerpos según el modo de acción: dos que se combinan con los

grupos haptóforos del amboceptor, y uno que se une al grupo haptóforo del complemento; aquéllos son los antiamboceptores, éste es el anticomplemento.



CAPITULO V

Los sueros hemolíticos



Hasta el presente hemos estudiado la acción hemolítica de sustancias cuya acción se han explicado fácilmente mediante fenómenos de orden puramente físicos. A pesar de todo, se rehusa admitir que las modificaciones de permeabilidad de la pared globular sea debido a una simple hidratación; aunque Nolf lo había establecido en cierto grado mediante sus numerosas investigaciones, se invoca una transformación química — aún más compleja — de la pared globular, gracias a la fijación de sustancias penetrantes. Poco importa en cuanto a la interpretación definitiva, y no deja de estar aún menos establecido que la hemolisis por los agentes químicos penetrantes y aún mismo por los no penetrantes es debida a una simple transformación de la pared globular.

Ahora vamos a estudiar toda una serie de agentes hemolisantes, de suma importancia. Los primeros estudios de estos agentes fueron realizados por Bordet en el año 1898, cuyo trabajo sobre los sueros hemolíticos, sus antitoxinas y las teorías de

los sueros citolíticos, se encuentran registrados en los Anales del Instituto Pasteur, del mismo año. La acción hemolizante de estos agentes parece en un principio diferente, un hecho ha sido considerado por la mayoría de los autores como producido por un mecanismo de un todo especial. Queremos referirnos a los sueros hemolíticos normales y a los obtenidos por vacunación.

Sabemos que los sueros hemolíticos normales son suero no modificados, de ciertas especies animales que tienen la propiedad de poder destruir *in vivo* o *in vitro* los glóbulos rojos de otra especie animal. Los otros sueros hemolíticos, por vacunación, son sueros cuyas propiedades globulizantes para los hematíes de otra especie, no se revela sino después de inyecciones sucesivas en el organismo del primer animal, de una cierta cantidad de hematíes que procedan del segundo.

Es verdad que el suero de cualquier animal presenta un cierto grado hemolítico para los hematíes de otro animal de especie vecina. Pero esa acción hemolítica es en esas condiciones sumamente débil, la cual puede exagerarse en alto grado por medio de inyecciones de glóbulos rojos del segundo animal practicadas sobre el primero. Obtenemos de éste un suero hemolítico específico, el cual hemolizará los glóbulos rojos de toda la especie animal con la que fué vacunado.

SUEROS HEMOLÍTICOS NORMALES

El suero normal humano, como el de muchos animales, tiene una propiedad de hemolizar los glóbulos rojos de otra especie. Los sueros humanos hemolisan los glóbulos rojos de carnero, de conejo, etc.; el suero de perro y el de rana globulizan a los hematíes de conejo (Landois). Esa capacidad hemolítica moderada, al estado normal, exaltada o disminuida al estado patológico, en cuanto se refiere al suero humano, en los animales puede aumentarse artificialmente ese poder hemolítico, para los glóbulos rojos de la especie que se quiera, mediante la inmunización ya por vía subcutánea o peritoneal con sangre defibrinada de la especie que se desea hemolizar.

El tipo de sueros hemolíticos normales nos es suministrado por el suero de anguila, cuya acción hemolisante, tanto *in vivo* e *in vitro*, para los glóbulos de especies diferentes, como el cobayo, conejo, perro, etc., ha sido estudiada y bien establecida por las investigaciones de Mosso, de Camus y Gley.

El suero de anguila, de un poder hemolisante tan elevado como lo demuestran las diluciones con que actúa, de 1|10.000 y aún mismo en diluciones con cloruro de sodio al 1|20.000; esa propiedad he-

molítica desaparece mediante una temperatura de -56° durante 30 minutos.

Al lado de un suero tal, cuya acción es difícil precisar, en razón de su gran poder hemolítico, hay otros, un poco menos activos que por esa misma razón ofrecen mayor facilidad para el estudio.

El suero de perro contiene hemolisinas naturales para los glóbulos rojos del gallo, del caballo y del buey; el de conejo actúa en las mismas condiciones con los hematíes del caballo.

Las hemolisinas naturales del suero humano normal se subdividen, como ya sabemos: en heterolisinas, antolisinas e isolisinas.

Llamamos heterolisinas a las hemolisinas del suero que tiene la propiedad de hemolizar los glóbulos rojos de una especie o especies animales cualesquiera; por ejemplo, la acción sobre los glóbulos rojos de conejo, carnero, etc.

Las isohemolisinas, son hemolisinas naturales que se encuentran en los sueros normales y que tienen la propiedad de hemolizar los glóbulos rojos de sujetos o animales de la misma especie.

Autohemolisinas, son hemolisinas que tienen la propiedad de actuar sobre los propios glóbulos rojos. Esto lo observamos especialmente en las anemias profundas, los sueros tienen un enorme poder hemolítico para sus propios hematíes.

Según Maragliano, en muchas enfermedades el suero destruye sus propios hematíes.

Tibaud demostró en los hemotórax traumáticos esas tres clases de hemolisinas. Nosotros no hemos tenido la oportunidad de tener un caso semejante para comprobar la existencia de esos cuerpos en los derrames y comprobar las experiencias del autor citado. Es de advertir que el clínico se encuentra en una situación desventajosa; no sucede igual con el laboratorista; mientras éste realiza, repite y comprueba 20 veces sus experiencias, el clínico, todo lo contrario, espera los enfermos y los casos clínicos se repiten sólo al azar.

Hemos investigado, en cambio, las tres clases de hemolisinas naturales, en un hematocele pelviano; procediendo en la siguiente forma:

- 1.° Investigación de las hemolisinas para los glóbulos extravasados.
- 2.° Investigación de las hemolisinas para los hematíes de la sangre del sujeto.
- 3.° Investigación de las hemolisinas para los hematíes de otro sujeto.

La emulsión de hematíes extravasados en una solución de Na Cl al 7 o/oo en presencia de la serocidad peritoneal o del suero del enfermo, calentado a -56° , no hemolisa; sólo en presencia del suero fresco de cobayo.

La sensibilizatriz hemolítica ha sido fijada sobre los hematíes, esperando tan sólo la acción del complemento para producir la hemólisis.

Si mezclamos a hematíes extrasados, suero fresco del enfermo, se presenta una ligera hemólisis. El suero del enfermo encierra entonces una débil cantidad de complemento.

Los hematíes de la sangre del enfermo, lavados, emulsionados en solución de cloruro de sodio al 7 o/oo y adicionados de suero fresco de cobayo hemolisan ligeramente. Estos hematíes se encuentran sensibilizados, pero en menor grado que los hematíes del hematocrito. El suero fresco de cobayo no actúa entonces en las mismas condiciones sobre los hematíes del individuo normal.

Efectuando la experiencia precedente en presencia del suero sanguíneo del enfermo, los hematíes del enfermo no son ya hemolisados por el suero de cobayo. Es entonces admisible la presencia de una antiautohemolisina contenida en la sangre del enfermo, en cantidad suficiente para proteger *in vitro* contra la hemólisis, los hematíes poco sensibilizados de la sangre, en cantidad muy débil para proteger los hematíes extravasados y que están fuertemente sensibilizados.

Los hematíes normales, en las diversas condiciones que acabamos de indicar, no son hemolisados.

Lo son solamente en presencia del suero del enfermo, cuando agregamos complemento que contiene el suero de cobayo.

Hay entonces una isolisina en la sangre del enfermo, la cual se activa mediante la presencia del complemento agregado.

Tenemos, en resúmen, acerca de la presencia de las hemolisinas investigadas en nuestro enfermo, lo siguiente:

1.º Una autohemolisina, fijada sobre los hematíes extravasados, fijada en menor grado sobre los hematíes de la sangre y ausentes en el líquido del hematocele.

2.º Una isohemolisina, contenida en el suero del enfermo.

3.º Una antiautolisina protectora contra la hemólisis de los hematíes de la sangre del enfermo.

Este caso tan interesante nos ha servido para evidenciar la existencia de esas tres variedades de las hemolisinas naturales y otros hechos de importancia.

Las hemolisinas naturales, como las específicas, tienen propiedades comunes en lo que respecta al complemento y amboceptor, propiedades que serán tratadas en el estudio de las sueros hemolíticos específicos o por vacunación.

SUEROS HEMOLÍTICOS POR VACUNACIÓN

Sueros hemolíticos verdaderos. — Bordet, en 1898, es quien ha dado a conocer los sueros hemolíticos, obtenidos por vacunación, habiendo hecho un estudio casi completo de ellos.

Es fácil obtener un suero de esa naturaleza sometiendo a conejos a dos o tres inyecciones subcutáneas de 3 a 5 centigramos de sangre defibrinada de carnero.

Es sabido que el suero de conejo no tiene acción sobre los glóbulos rojos de carnero. Una vez sometidos los conejos a la inmunización indicada, los sueros de esos conejos aglutinan y destruyen los hematíes de carnero, respetando los glóbulos rojos provenientes de otros animales diferentes.

Aquí en estos sueros, como en los naturales hemolíticos, el complemento y el amboceptor desempeñan un factor importante en el fenómeno de la hemolisis.

Pueden demostrarse *in vitro* las propiedades de estos sueros hemolíticos específicos, artificiales o por vacunación.

Tenemos, por ejemplo, el suero normal de conejo; no tiene acción hemolítica sobre los glóbulos rojos de carnero; una vez bien comprobado esto, averiguamos las diferencias que hay entre el suero

del mismo animal, antes y después de haberle inoculado una cierta cantidad de glóbulos rojos de carnero, o sea la diferencia que hay entre el suero del conejo normal y el de un conejo inmunizado, procediendo para esto en la forma siguiente:

1.° Se extrae unos 50 ó 60 centímetros cúbicos de sangre de carnero, se bate bien, y una vez defibrinada se centrifuga; una vez centrifugada y separado el suero, se lava repetidas veces con solución isotónica de Cl Na para los glóbulos de carnero; se obtienen así glóbulos rojos en buenas condiciones para una experimentación. Estos glóbulos se dividen en dos partes:

2.° Se toma una de estas partes y se distribuyen los glóbulos en varios tubos, se agregan a éstos, suero normal en proporciones distintas y se dejan en reposo.

3.° La otra segunda parte de glóbulos se reparten en otros tantos tubos y se les agrega a todos, suero de conejo inmunizado en una forma que veremos más adelante.

4.° Después de un determinado tiempo se puede observar que en esta segunda serie de tubos se ha producido hemólisis y el líquido total se ha vuelto rojo, y en cambio en la primera serie de tubos se observa: 1.° en la parte inferior una capa o depósito formado por glóbulos; 2.° sobre ellos se encuen-

tra un líquido transparente, que es el suero normal de conejo agregado.

¿Qué nos demuestran esas reacciones? Esas diferencias manifiestas, nos demuestran que el suero de conejo vacunado tiene propiedades que no se manifiestan en el suero del conejo normal. Pero es de notarse que si se repite el experimento utilizando sueros inmunes, obtenidos de distintos conejos, se comprobará (empleando el mismo reactivo globular) por las reacciones, que no todos estos sueros tiene el mismo poder hemolítico; es interesante indagar las causas que influyen o determinan esas diferencias, las que se pueden dilucidar valiéndonos del calor.

1.° Si tomamos un suero de conejo inmune y se lo somete a una temperatura de $-| - 56^{\circ}$ durante 30 minutos y repetimos el experimento anteriormente descrito, la hemólisis no se verifica; luego pues, el suero inmune contiene un elemento que ha sido destruido por el calor; a un grado y durante un tiempo ya indicado.

2.° Si a esta misma serie de tubos que no acusen hemólisis y que contienen suero de conejo inmunizado calentado previamente a $-| - 56^{\circ}$ durante 30 minutos, le agregamos suero de conejo normal en cantidades necesarias; después de un determinado tiempo observamos una perfecta hemólisis.

Este resultados tan distinto permite pensar,

que la hemolisis verificada por el suero inmune, es debida a dos elementos distintos: el uno de esos elementos que fué destruido por el calor y que pertenece a todos los sueros, desde el momento que después de haberle agregado el de conejo normal, se obtuvo el mismo resultado que antes de calentarlo; y el otro, que es propiedad de éste, y resiste la acción de un calor de $-| - 56^{\circ}$ durante 30 minutos.

En el suero inmune existe entonces las sustancias ya indicadas en el precedente capítulo; una que no es específica y se destruye por un calor de $-| - 56^{\circ}$ durante 30 minutos y otra; que lo es, desde el momento que no se manifiesta, en el suero normal; pues bien, a esta substancia no específica se le llama complemento, él cual puede definirse diciendo: se llama complemento a una sustancia no específica de todos los sueros, que interviene en la hemolisis y se destruye al someterlo a $-| - 56^{\circ}$ durante 30 minutos.

Para comprobar la existencia del otro elemento que no contienen los sueros normales, podemos valernos del siguiente procedimiento:

1.° Se disponen tres series de tubos y se procede como sigue: en la 1.ª serie se echan cantidades iguales de glóbulos rojos de carnero y distintas proporciones de suero inmune y se lleva a la estufa a $-| - 56^{\circ}$ durante 30 minutos; en la segunda serie, se vierte igual cantidad de glóbulos rojos y de suero

immune que en la serie anterior y se lleva a la estufa a 70° durante algunos minutos y, en la tercera serie, igual cantidad de glóbulos rojos y suero normal, que en las anteriores, esta última serie no se lleva a la estufa.

2.° Se echa en todos los tubos cantidades iguales de suero normal de conejo y observaremos las siguientes reacciones:

En la 1.ª serie de tubos que contiene suero calentado a -| 56° durante 30 minutos y glóbulos rojos, hay hemolisis, porque el elemento que fué destruido por la temperatura, se substituyó con el suero normal de conejo, agregado posteriormente.

En la 2.ª serie, que contenía suero immune calentado a una temperatura de -| 70° durante algunos minutos, y glóbulos rojos de carnero; no hay hemolisis, porque el suero normal de conejo agregado posteriormente no contiene el elemento específico: el amboceptor.

En la 3.ª y última serie, que contenía suero normal de conejo y glóbulos rojos de carnero, tampoco hay hemolisis, porque le falta el elemento específico de los sueros inmunes.

Estas reacciones obtenidas de la experimentación, demuestran en forma evidente que existen dos substancia en todo suero immune o hemolítico; 1.° una substancia llamada complemento que se

destruye a $-| - 56^{\circ}$ durante 30 minutos, y otra, que se destruye a $-| - 70^{\circ}$ durante algunos minutos.

2.° El complemento existe en todos los sueros, el hecho de haber agregado suero normal de conejo a todos los tubos que fueron sometidos a $-| - 56^{\circ}$ durante media hora y que provocó la hemolisis de toda la serie. 3.° Que los dos elementos son de imprescindible necesidad para que el proceso hemolítico se lleve a cabo, como lo demuestra el hecho que no haya habido hemolisis en la serie de tubos que contenía tan solo suero normal y glóbulos rojos de carnero. Tenemos en resumen una substancia que acabamos de poner en evidencia mediante una temperatura de $-| - 70^{\circ}$; se llama ese cuerpo amboceptor, el que podemos definir diciendo: Amboceptor es la substancia específica que aparece en el suero de los animales, cuando penetra en su organismo un antígeno y que sometido a $-| - 70^{\circ}$ durante algunos minutos, se destruye. Se llama antígeno a toda substancia extraña al organismo y que tiene la propiedad de incitar a las células de organismo a la formación de elementos defensores que se conocen con el nombre de anticuerpos. En el presente caso, el antígeno del que se hace mención — son los glóbulos rojos de carnero, que nos han servido para inmunizar al conejo.

El organismo tiene la notable propiedad de formar anticuerpos específicos, frente al material

extraño — antígeno — que, en él es introducido. Así, por introducción de células extrañas — epitelios vibrátiles, espermatozoides, leucocitos, células hepáticas, etc. — pueden producirse sustancias que disuelvan dichas células: *citolisinas*. Por la introducción de bacterias obtenemos unos anticuerpos que se llaman *bacteriolisinas*.

Para la producción de hemolisinas como ya lo hemos expuesto, basta la inyección de cantidades extremadamente pequeñas de sangre extraña. Sachs, llegó a engendrar hemolisinas en los conejos por la inyección de 0.125 c.c. de sangre de buey. Friedberger y Dörner, han engendrado hemolisinas por inyección de una cantidad de eritrocitos de 1 a 1.5 mg. de una emulsión sanguínea al 5 o/o.

Al conjunto de un elemento extraño en el suero sanguíneo: Antígeno -|- el amboceptor correspondiente -|- el complemento necesario; se le da el nombre de: *sistema hemolítico*. Si falta en el sistema algunos de los elementos estudiados, la hemolisis no se efectuará.

Acción de la temperatura sobre los sueros. — La acción de la temperatura sobre las propiedades hemolíticas y bactericidas de los sueros, es conocida desde las experiencias de Buchner.

Maurwaruig ha investigado la influencia de la temperatura sobre el suero de cabra y ha constatado

que la supresión de las propiedades hemolíticas, se obtienen con tanta mayor rapidez, cuando la temperatura es elevada. Observó que la destrucción es completa a $-| - 61^{\circ}$ durante 2 minutos, a $-| - 57^{\circ}$ durante 8 minutos a $-| - 55^{\circ}$ durante 12 minutos, a $-| - 53^{\circ}$ durante 20 minutos y a $-| - 51^{\circ}$ durante 35 minutos. A $-| - 49^{\circ}$ la hemolisis persiste aún después de una hora.

Pero basta someter cualesquier suero a la temperatura de $-| - 56^{\circ}$ durante 30 minutos para que pierda su poder hemolítico. El suero sometido a este procedimiento toma el nombre de *inactivado*.

Reactivación de los sueros. — Hemos visto en el curso de las experiencias, en el presente capítulo, que habiendo un suero perdido su poder hemolítico por la acción de la temperatura de $-| - 56^{\circ}$ durante 30 minutos, temperatura que solo destruía el complemento del suero y producía un desequilibrio en el sistema hemolítico. Hemos demostrado que bastaba agregar suero fresco normal de conejo, para que el suero adquiriera nuevamente su poder perdido y restablecerse el sistema hemolítico, indispensable para que haya hemolisis. Esta operación de adicionar suero normal a un suero inactivado se llama *reactivar el suero*.

Relaciones del complemento y del amboceptor en las hemolisinis. — Estos estudios han sido per-

fectamente efectuados por G. Mioni y L. Remy. Solo transcribiremos a continuación las conclusiones a que llega el primero de estos autores (que no difieren de las del segundo) dejando a un lado la faz experimental del estudio, que Mioni ha llevado a un alto grado de perfección. Esas conclusiones son:

1.° “Los glóbulos rojos; de la sangre, no ofrecen todos la misma resistencia frente a las hemolisinas. Bajo ese punto de vista podemos dividirlos en glóbulos de resistencia *mínima*, *mediana* y *máxima*.”

2.° “La destrucción de un cierto número de glóbulos rojos de resistencia elevada, exige una cantidad de hemolisina mayor, que para una misma cantidad de glóbulos de débil resistencia.”

3.° “Entre ciertos límites de dilución, la cantidad de glóbulos rojos destruidos es proporcional a la cantidad de hemolisinas contenidas en el suero.”

4.° “En las hemolisinas naturales del buey y del perro, el complemento y el amboceptor, se encuentran en condiciones óptimas para obtener un efecto hemolítico máximo. Ni el complemento, ni el amboceptor se encuentran en exceso.”

5.° “Variando experimentalmente, la relación entre la sensibilizatriz y la alexina en las hemo-

“ lisinas naturales, se obtienen los resultados siguientes”:

- a) “En presencia de un exceso de sensibilizatriz, la hemolisis es proporcional a la cantidad de alexina.”
- b) “En presencia de un exceso de alexina, la hemolisis es proporcional a la cantidad de sensibilizatriz.”
- c) “Cuando la alexina no está en exceso, podemos aumentar el efecto hemolítico, aumentando progresivamente la dosis de sensibilizatriz. Pero excediéndose de cierto límite, la adición de nuevas cantidades, disminuye el efecto hemolítico.”
- d) “Lo mismo cuando la sensibilizatriz no está en exceso, la alexina refuerza el efecto hemolítico, hasta un cierto límite, pasado el cual la hemolisis disminuye. Pero la acción coadyuvante de la alexina es menos considerable que la acción de la sensibilizatriz.”

APENDICE

Por la clasificación hecha de las hemolisinas, tenemos una clase de hemolisinas no específicas, que

son intermediarias entre las naturales y específica; a esta clase pertenecen los venenos de ciertos animales y algunos productos tóxicos de algunos bacterios.

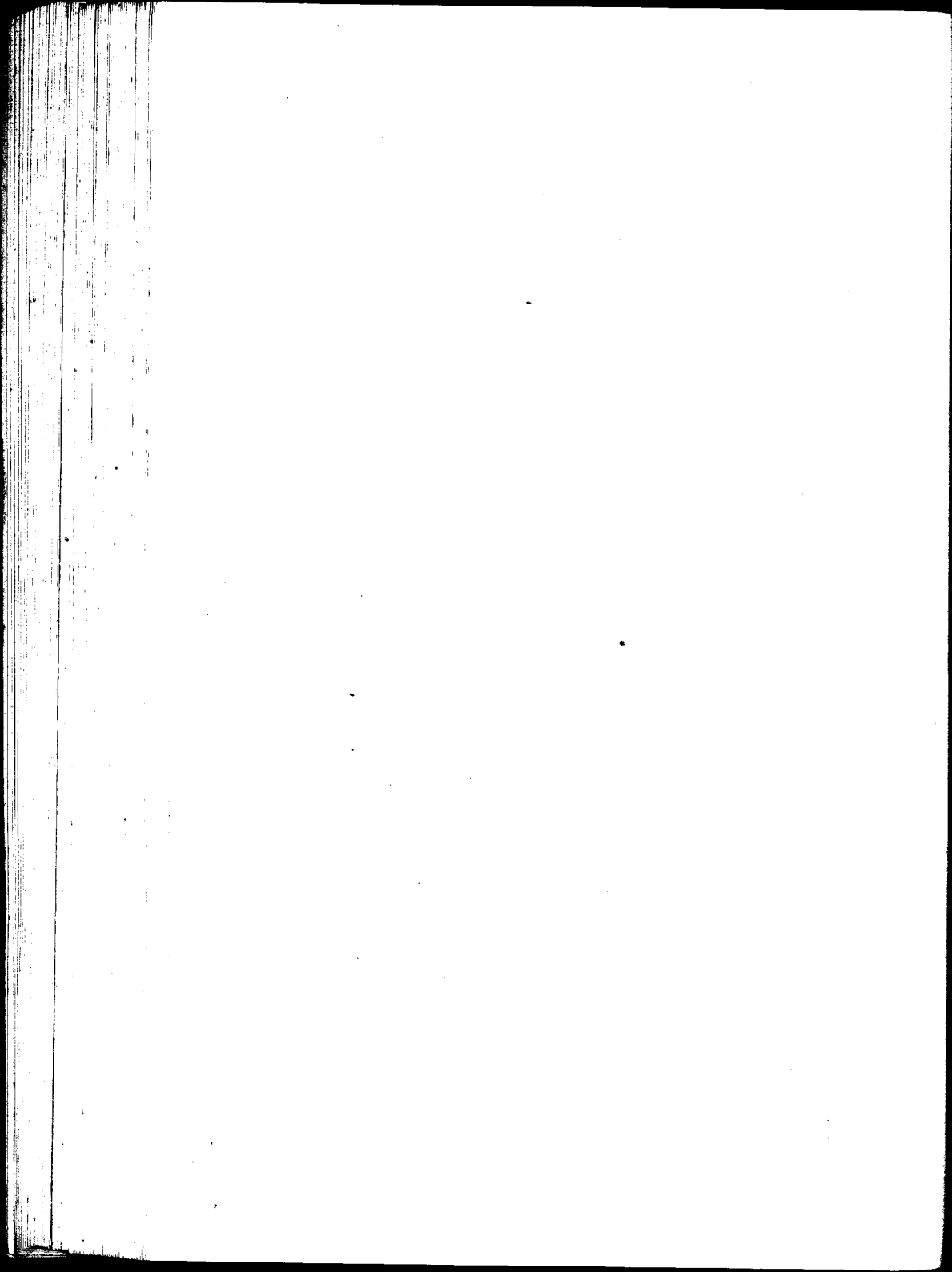
Trataremos brevemente estos dos puntos, que por lo reducido no merecen un capítulo aparte:

Venenos animales hemolíticos. — Ciertos venenos animales, como por ejemplo el de las avejas, arañas, escuerzos, serpientes, etc., también ejercen una acción hemolítica. Está demostrado que el veneno de las serpientes produce la disolución de los glóbulos rojos, como las hemolisinas del suero sanguíneo, por la acción combinada de dos sustancias: el amboceptor, es el mismo veneno; el complemento es la lecitina (Kyes). El amboceptor del veneno de cobra; por ejemplo, se une con la lecitina formando un nuevo cuerpo, el *cobralecitido*, que se distingue del veneno originario de la cobra y también de la lecitina, por su solubilidad. El cobralecitido puede obtenerse puro. La hemolisis por el veneno de cobra y la lecitina es fuertemente paralizada por la colesterina.

Bacteriolisinas. — Los productos nutritivos de muchas bacterias, producen acción hemolítica, por ejemplo: el bacilo tetánico, el vibrión del cólera el bacilo tífico, el colibacilo, los estafilococos y otros.

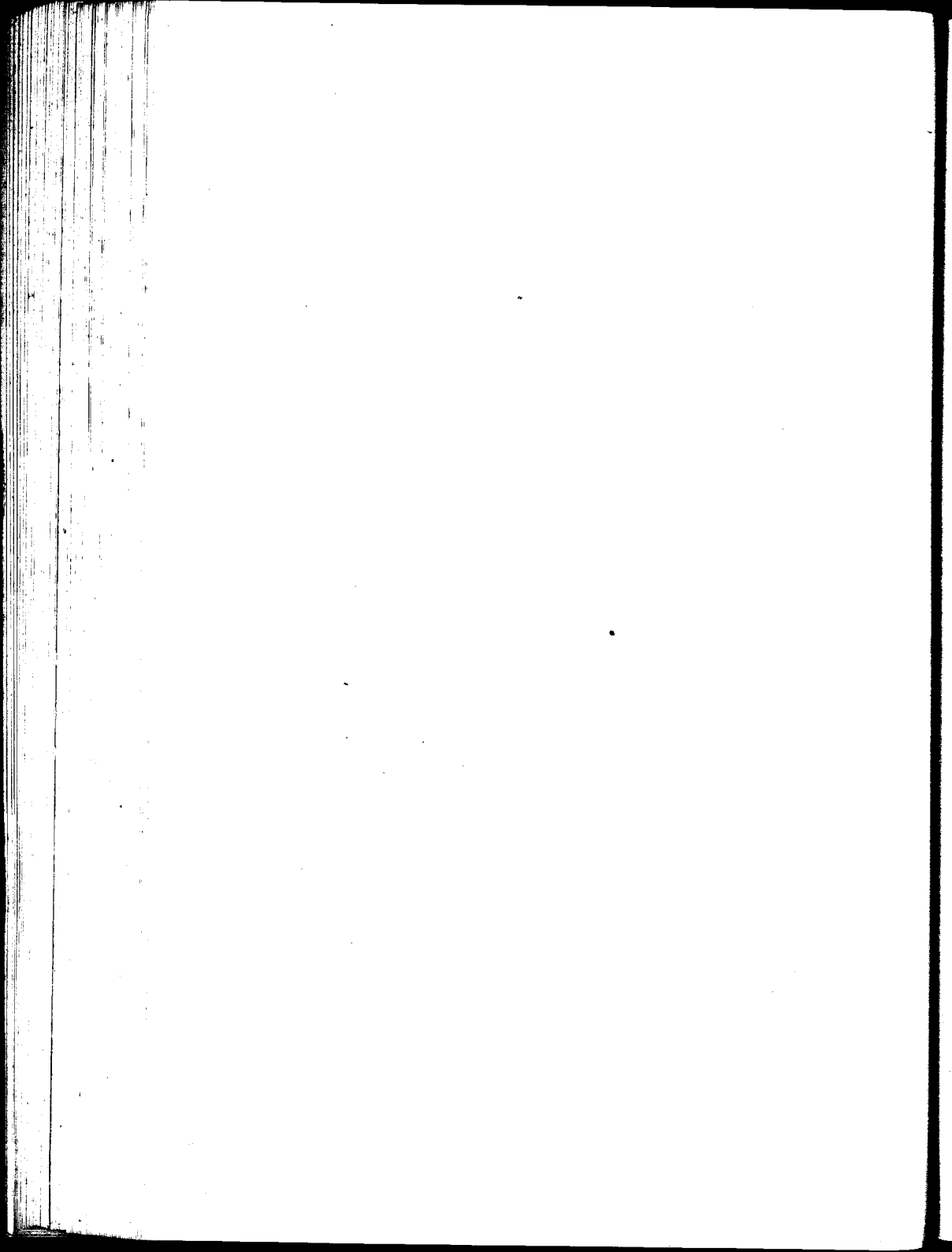
En el suero normal de algunos animales hay anticuerpos para estas hemolisinas. Pueden ser engendradas artificialmente por inmunización de los animales con hemolisinas. A una determinada hemolisina con hemolisinas.

A una determinada hemolisina corresponde el efecto de la hemolisina correspondiente, pero no el efecto de otras. Así por ejemplo, la antiestafilolisina, engendrada por inmunización artificial del conejo con estafilosina (hemolisina de los estafilococos), protege a los hematies del conejo contra el efecto de la estafilolisina, pero no contra el de la tetanolisina que es la hemolisina del bacilo tetánico.



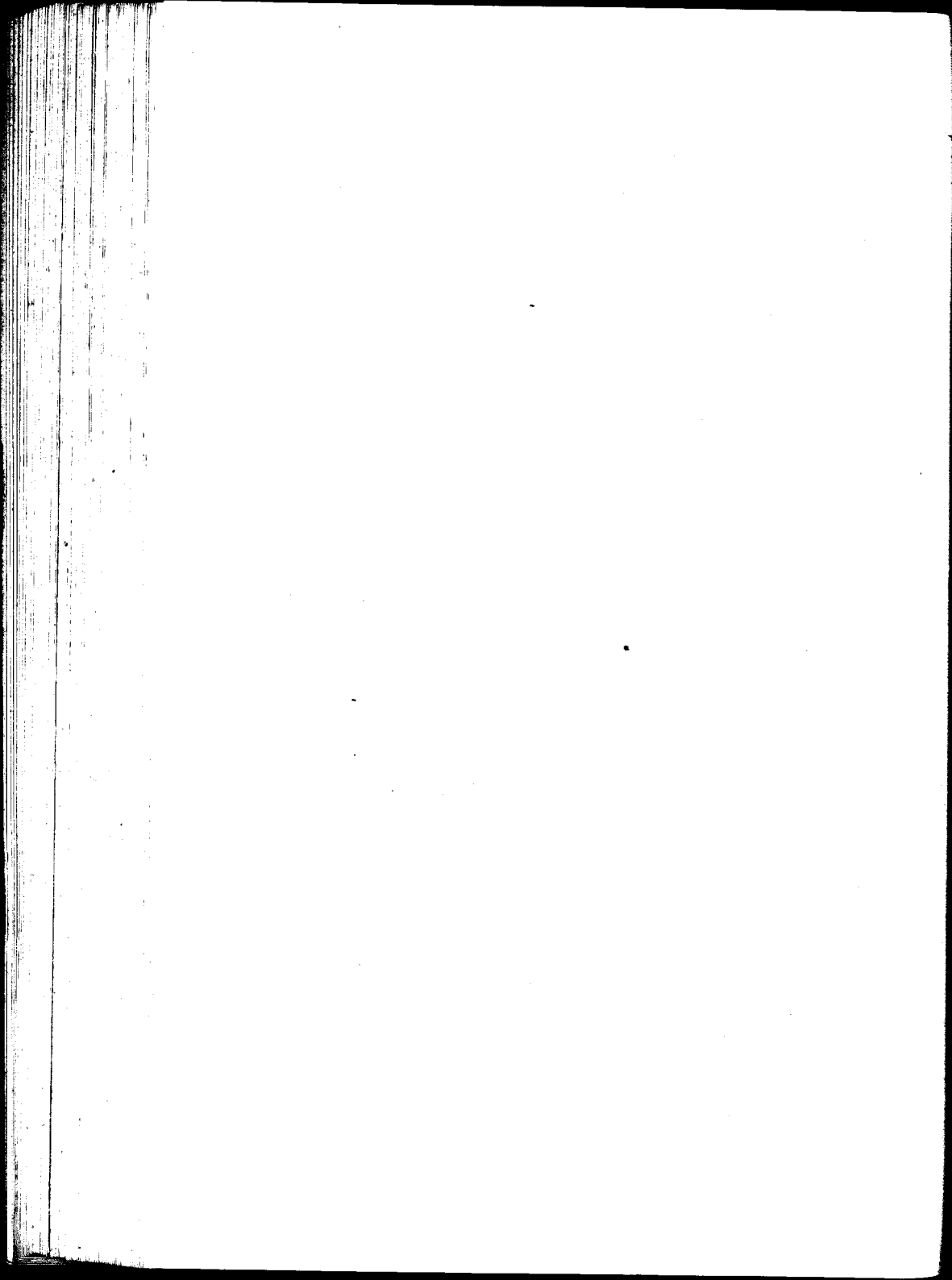
Segunda Parte

- CAPÍTULO I.** — Diferente poder hemolítico de un mismo suero
- » **II.** — Causas accesorias susceptibles de variar los resultados de la hemolisis.
 - » **III.** — Método adoptado e interpretación de los resultados.
 - » **IV.** — Las hemolisinas del suero al estado patológico.



CAPITULO I

Diferente poder hemolítico de un mismo suero



Las investigaciones hemolíticas practicadas ya sea al estado normal o patológico, dosando en forma sistemática las heterohemolisinas del suero humano; demuestran el gran número de variaciones en los resultados de esas acciones hemolíticas.

En el curso de las observaciones que se anotarán al final de este capítulo, se ha podido constatar que el poder hemolítico de los sueros, varía no solo de un sujeto a otro, sinó también en las diferentes partes del sistema vascular de un sujeto.

Se ha investigado experimentalmente esas diferentes variaciones del poder hemolítico, al estado normal y al estado patológico y de sus resultados se pueden deducir algunas conclusiones. Habiendo adoptado el siguiente orden en las investigaciones.

1.º Investigación del poder hemolítico del suero normal de conejo.

2.º Investigación del mismo suero normal de conejo, pero obtenido de diversas partes del sistema vascular.

Se constatan variaciones muy netas en un mismo animal, cuyas variaciones pueden explicarse por ciertos intercambios fisiológicos.

Todas las investigaciones efectuadas, han sido llevadas con toda corrección y con todos los cuidados requeridos, habiéndose excluido los anestésicos, tales como el éter, el cloroformo, agentes todos que tienen acción sobre el estado vital del eritrocito, muy marcada, como ha sido ya demostrado al tratar de la hemolisis.

Excluido estos agentes, como así mismo el sueño eléctrico, por causas ya conocidas; se ha procedido sacrificando los conejos y los perros por sección del bulbo. Sacrificado el conejo por ese procedimiento, inmediatamente después de previa laparatomía aséptica, con pipetas y material esterilizado se obtienen muestras de sangre, de las diversas regiones del sistema circulatorio, como se enumeran a continuación:

- 1.° De la vena cava superior.
- 2.° " " " " inferior. Por debajo y por encima del hígado.
- 3.° De la vena hepática.
- 4.° " " " porta.
- 5.° " " " esplénica.
- 6.° " " " mesentérica.
- 7.° Del corazón derecho.
- 8.° " " izquierdo.

A fin de llegar a resultados siempre iguales, los sueros obtenidos después de la coagulación y por centrifugación, han sido siempre ensayados todos, en las mismas condiciones, de volúmen, de tiempo y de temperatura.

El poder hemolítico de estas diferentes muestras de suero de conejo, han sido dosados por diluciones progresivamente débiles de suero; — véase procedimiento adoptado — sobre una solución al 1|10 de glóbulos rojos de conejillo de Indias.

De estas investigaciones practicadas en su mayor parte sobre conejos, se observa que en un mismo animal, el poder hemolítico del suero es diferente según las regiones que pertenezca.

El suero obtenido de la sangre extraída de la vena porta, por ejemplo; puede tener un índice hemolítico sumamente elevado, mientras que el de la vena cava superior, por el contrario se manifiesta con índice hemolítico bajo.

De las numerosas observaciones realizadas con respecto al poder hemolítico del suero obtenido en las condiciones indicadas en párrafos anteriores; se llegan a las conclusiones siguientes:

1.º El suero correspondiente a la sangre obtenida del corazón derecho, muestra ser siempre menos hemolisante que el del corazón izquierdo.

2.º Los sueros de la vena cava superior, la ma-

yoría de las veces se presenta el poder hemolítico aumentado (5 casos sobre 6).

3.° Los sueros de la mesentérica en los 6 casos observados, han actuado con índice elevado. Otros autores como Ferre M. sobre siete observaciones encontraron 4 veces el poder hemolisante exagerado y 3 veces disminuido).

4.° En cuanto a los sueros de la cava inferior, varían sus resultados en la siguiente forma:

- a) Los sueros tomados por encima del hígado hemolisan siempre en mayor grado.
- b) Los tomados por debajo hemolisan menos.

Decía en el comienzo del presente capítulo al tratar de las variaciones del poder hemolítico del suero, que podían explicarse por ciertos intercambios fisiológicos.

El perro ha servido para las observaciones que a continuación se expondrán; siguiendo el momento fisiológico en el cual se encuentra el aparato digestivo, el suero sanguíneo del animal cambia de aspecto y de composición. El perro en plena digestión presenta su suero un aspecto lactescente. Por el contrario, el suero recogido de un perro, que no come durante 24 horas, en las diversas regiones del aparato circulatorio; se presenta de aspecto claro.

El aspecto lactescente del suero del perro que ha comido, es más o menos acentuado, según que,

el contenido del canal torácico, se haya o no vertido en su totalidad en el sistema venoso.

En un perro a las 4 horas y media después de una abundante comida, compuesta de sopa, carne y grasa, etc., la sangre de la vena cava será ya bastante lactescente, mientras que la del corazón izquierdo se presentará clara. Ahora bien si a las 7 horas, hacemos las mismas observaciones, en el mismo animal, el aspecto lechoso del suero se mostrará uniforme.

La lactescencia del suero es debido al quilo vertido por el canal torácico en el sistema venoso, esto puede evidenciarse por el idéntico aspecto que presenta ese líquido y el suero lactescente de un mismo animal observado al microscopio.

El suero claro de un perro en ayunas hemolisa fuertemente la solución al 1|10 de glóbulos rojos de conejo; es de notarse que de todas las muestras de suero tomadas, las de la vena cava superior demuestra mayor poder hemolítico.

Investigando el poder hemolisante de las diversas muestras de suero del perro sacrificado por sección del bulbo, a las 5 horas, después de su abundante comida, los sueros presentan una lactescencia variada, de grado decreciente, desde la vena cava superior, del corazón derecho, hasta la sangre del ventrículo izquierdo. Los sueros obtenidos de la cava superior y del corazón derecho, eran menos

hemolisantes. Los sueros encontrándose en este estado fisiológico de la función digestiva, mientras más claros, mayores son sus índices hemolíticos.

Otro animal sacrificado a las 7 horas de su comida grasienta, el suero tiene un aspecto uniformemente lactescente, las diferentes muestras de suero tienen un poder hemolítico atenuado, en forma homogénea y en relación con cada región del sistema venoso, del animal en plena digestión.

Si el hecho de que el contenido del canal torácico, cambia el aspecto del suero, que de claro se torna lactescente y atenúa en una forma homogénea el poder hemolítico del suero en todas las regiones del sistema circulatorio, es de advertir que la acción atenuada de la hemólisis de esos sueros, es originada por la linfa.

En vista de esos resultados producidos por el intercambio nutritivo, he investigado también el poder hemolisante del contenido del canal torácico del perro en ayunas, como también en plena digestión. El contenido del perro en ayunas, tenía un poder hemolítico disminuido con relación al suero sanguíneo, resultados que están en un todo de acuerdo, con los obtenidos por M. Basselli, que llegó a la siguiente conclusión: "el poder hemolisante de la linfa del perro está en relación con la del suero sanguíneo del mismo animal como 7 es a 11". En el perro en plena absorción intestinal, el contenido

del conducto torácico, de aspecto lechoso, después de su coagulación nos suministra un líquido cuyo poder hemolítico es evidentemente más débil que el del suero sanguíneo y a la vez también más débil, que el del contenido torácico del perro en ayunas.

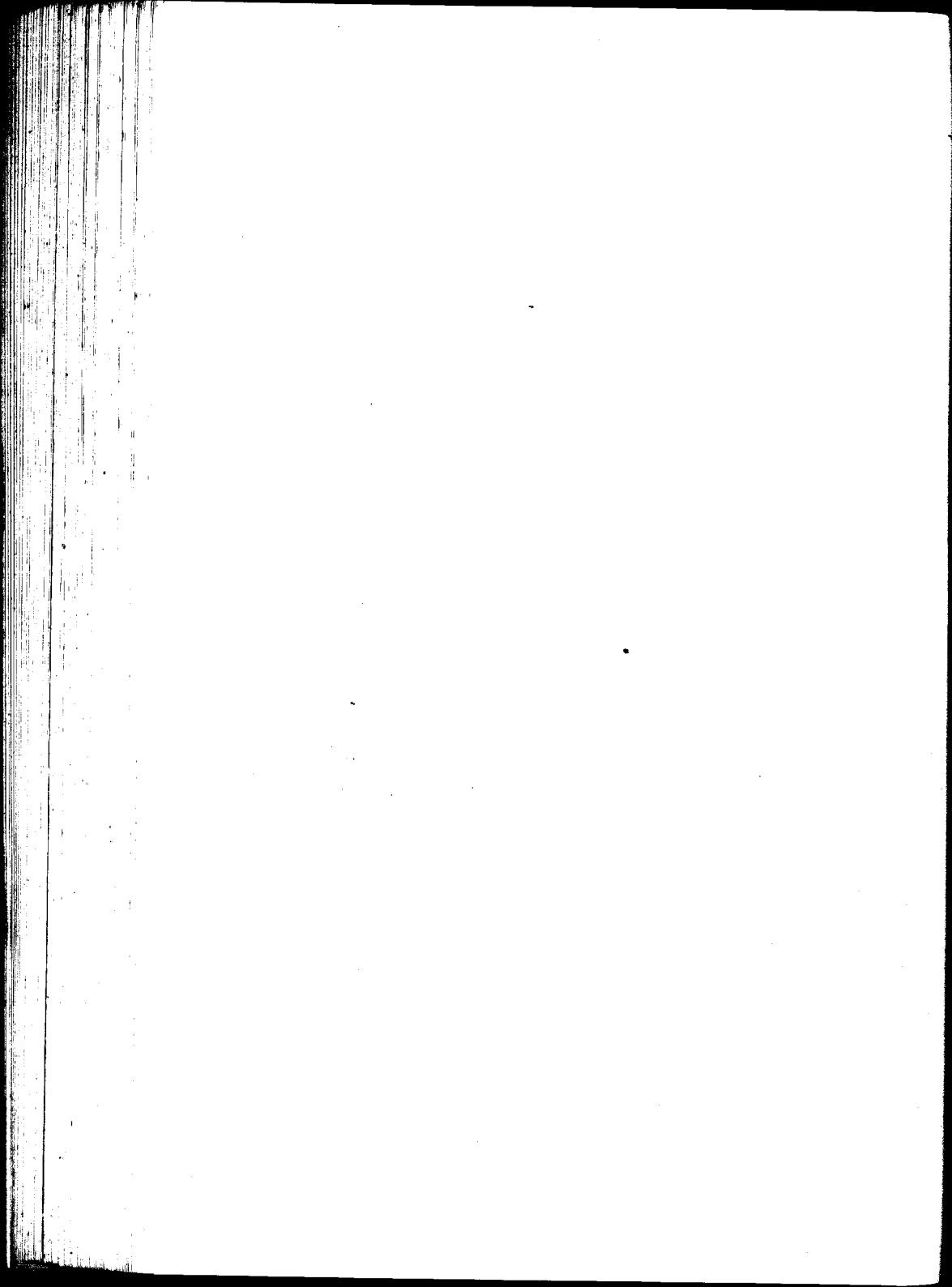
En conclusión resulta qué: en los perros, donde su sangre no es modificada por el quilo, el poder hemolítico de los sueros varían y parece ser máxima esa variación en la vena cava superior. En los perros donde la sangre recibe a nivel de los gruesos vasos venosos del cuello, el producto o el resultado de la absorción intestinal, la sangre de la vena cava superior hemolisa al *mínimum*. Como decía *ante-lactescente* de los sueros; contribuye a ser una causa nido del conducto torácico, el hecho de echarse el quilo en el sistema venoso y determinar el aspecto *lactescente* de los sueros; contribuye a ser una causa de la variación del poder hemolítico. Y hay este hecho; que he comprobado y es qué, en estado de ayuno, los sueros obtenidos en los puntos alejados de la cava superior, lo mismo que el suero de cualquier parte de la periferia; tiene mayor poder hemolítico, que los sueros obtenidos en las mismas regiones del perro en estado de digestión. Esto viene a demostrarnos la atenuación del índice hemolítico de los sueros causado por los intercambios nutritivos.

Habiéndose efectuado experimentalmente el

estudio de las variaciones del poder hemolítico de los sueros normales, debido a las heterohemolisinas naturales que contienen; sus investigaciones al estado patológico constituiría el tema del último capítulo.

CAPITULO II

**Causas accesorias, susceptibles de variar
los resultados de las hemolisis**



Numerosas son las causas, susceptibles de influir y variar los resultados de la hemolisis; las cuales trataremos brevemente a continuación:

Falta de asepsia

Este factor es de gran importancia. Los autores y muy especialmente M. Vaquez, insiste, desde sus primeros ensayos; habiendo indicado siempre la necesidad de rigurosa asepsia, cuando anotaba los resultados obtenidos al cabo de varias horas. La influencia de la falta de asepsia crece naturalmente con el tiempo empleado en la operación. Es necesario no escatimar precauciones y de asegurar de una manera perfecta, la limpieza y esterilización de los instrumentos, útiles necesarios, soluciones, etc., y de la piel del sujeto a examinar.

La falta de esterilización de la solución de Cl Na, nos dió, operando con el mismo suero de un en-

fermo, resultados diferentes; haciendo uso de una esterilizada se obtuvo un resultado 5 y con la primera la hemolisis se producía en el tubo N.º 6.

Los resultados contradictorios ocasionados por la falta de esterilización; han demostrado la necesidad de una rigurosa asepsia, y desde entonces se someten todos los tubos tanto de ensayo como de experimentación, pipitas, etc., durante 15 minutos a una temperatura $-| - 180^{\circ}$, y las soluciones durante 20 minutos al autoclave a una temperatura de $-| - 180^{\circ}$. Para evitar la evaporación que nunca falta, aún en un frasco rigurosamente cerrado con algodón o con tapa esmerilada; se colocan las soluciones en tubos y se cierran a la llama. En esas condiciones podrán esterilizarse las soluciones que sean necesaria, sin temor de concentración alguna.

La piel de la región, donde será tomada la sangre, será limpiada con jabón y agua, secándose rigurosamente mediante compresas o gasa esterilizada.

Duración

Es de corriente observación que excediéndose más de 24 horas en la operación, los glóbulos rojos, en presencia de la solución de suero que se hace actuar, se muestran menos resistentes y con mayor facilidad se produce la difusión de la hemoglobina en

la solución de suero. Pero todas esas diferencias son reducidas al *mínimum* cuando la asepsia ha sido observada rigurosamente.

Temperatura

En el corto espacio de 20 minutos a 24 horas, tiempo *mínimum* y *máximo* necesario — según el procedimiento adoptado — para llegar a un resultado; la temperatura de -12° a -37° parece no tener mayor influencia. Pero una temperatura constante de la estufa a -37° , favorece ligeramente el despojo de la hemoglobina del estroma globular.

Soluciones impuras

Es de una necesidad imprescindible, el empleo de agua rigurosamente destilada, como así mismo de cloruro de sodio químicamente puro.

El cloruro de sodio es una sal anhidra, pero sus cristales contienen el agua de interposición. Esta agua de interposición cuando se opera con pequeñas cantidades de solución, es susceptible de modificar los resultados. La solución que se emplea, para operar, de acuerdo con el procedimiento que se in-

dicará en el capítulo siguiente, es una solución de Cl Na al 8 o/oo solución isotónica para los glóbulos rojos de conejo.

Suero sanguíneo

El procedimiento para la obtención del suero, es de una importancia capital. El procedimiento de las ventosas escarificadas para la extracción de sangre del enfermo merece la objeción siguiente: las ventosas la mayoría de las veces, por no decir todas, nos dan un suero sanguíneo, ya hemolisado. Se explica este fenómeno, por la acción del alcohol cuando con él se opera, el calor tiene una acción ya bien descripta en el capítulo III.

Es preferible proceder siempre la punción de las venas del pliegue del codo, para obtener la sangre necesaria; bastando unos 4 o 5 c.c.

Obtenida la cantidad necesaria de sangre, centrifugamos inmediatamente y a medida que se coagula, va separándose el suero del coágulo, quedando este en el fondo del tubo y sobrenadando el suero. También puede abandonarse la sangre en la heladera a una temperatura no muy baja, se efectúa la coagulación, ocupando el coágulo todo el alto del tubo y el suero disseminado en la periferia. Este

procedimiento es criticable, puesto que, si existen autohemolisinas en el suero de la sangre extraída, recogeremos un suero ya hemolisado, por haber actuado sobre sus propios glóbulos rojos. Una vez separado el suero del coágulo, se retira con una pipeta esterilizada y se coloca en tubos hasta tanto sea utilizado.

Preparación de glóbulos rojos de conejo

Después de desinfectar y de producir una congestión intensa por medio del xilol, se punciona la vena marginal de la oreja, se va recogiendo la sangre en un frasco que contiene 30 o 40 perlas de vidrio. Después de recoger 30 o 40 c.c. de sangre (cantidad máxima, por cuanto si nos excedemos sacando 50 c.c., hay probabilidades de que el conejo muera). Se tapa previamente el frasco con el objeto de efectuar la operación al abrigo del aire y se procede a defibrinar la sangre. Después de un continuo batido de 20 o 30 minutos, la fibrina forma un solo blocks y los glóbulos rojos se encuentran disaminados en su propio suero. Una vez retirado el blocks de fibrina, se centrifuga durante 10 o 15 minutos esta mezcla de glóbulos rojos y de suero; los glóbulos rojos se depositan sobrenadando el suero, se decanta éste, y se vierte sobre los glóbulos rojos

una solución isotónica de Cl Na al 8 o|oo, se agita y se centrifuga nuevamente. Esta operación tiene por objeto lavar los glóbulos rojos, es decir suprimir las escasas cantidades de suero que aún quedaba entre el elemento globular; esta última operación puede practicarse dos o tres veces si necesario fuese.

Obtenidos los glóbulos rojos de conejo, se depositan estos en tubos de ensayos previamente esterilizados. Pueden ser conservados en la heladera por espacio de 2 o 3 días a lo sumo, a una temperatura de $-|$ 8° a $-|$ 10°.

Preparación de la solución globular al 1|10

Esta emulsión o solución globular se prepara de la siguiente forma: se toma 1 c.e. de glóbulos rojos de conejo y 9 c.e. de la solución isotónica de Cl Na , se agita bien y se tiene en total 10 c.e. de solución al 1|10 de glóbulos rojos de conejo.

Habiéndose obtenido ya el suero del enfermo normal o patológico, teniéndose las soluciones al 1|10 de glóbulos rojos como también la solución isotónica para los glóbulos rojos de conejo al 8 o|oo, se puede proceder a efectuar el dosage del poder hemolítico de las heterohemolisinas, punto que se tratará en el capítulo siguiente:

Agentes terapéuticos

Antes de proceder al dosage del poder hemolítico de las heterohemolisinas, es necesario indagar si el paciente se encuentra en tratamiento y la clase de medicamentos suministrados. Será siempre conveniente a fin de uniformar un criterio, de efectuar todas las investigaciones, antes de la suministración de los medicamentos.

Hay un sin número de medicamentos que tienen una acción marcada sobre las hemolisinas del suero humano.

En el orden de los diuréticos tenemos los siguientes que disminuyen y aumentan el poder hemolíticos de los sueros; indicaremos con el signo — la disminución, con el signo -|- el aumento y con el seguro O, los de acción indiferentes:

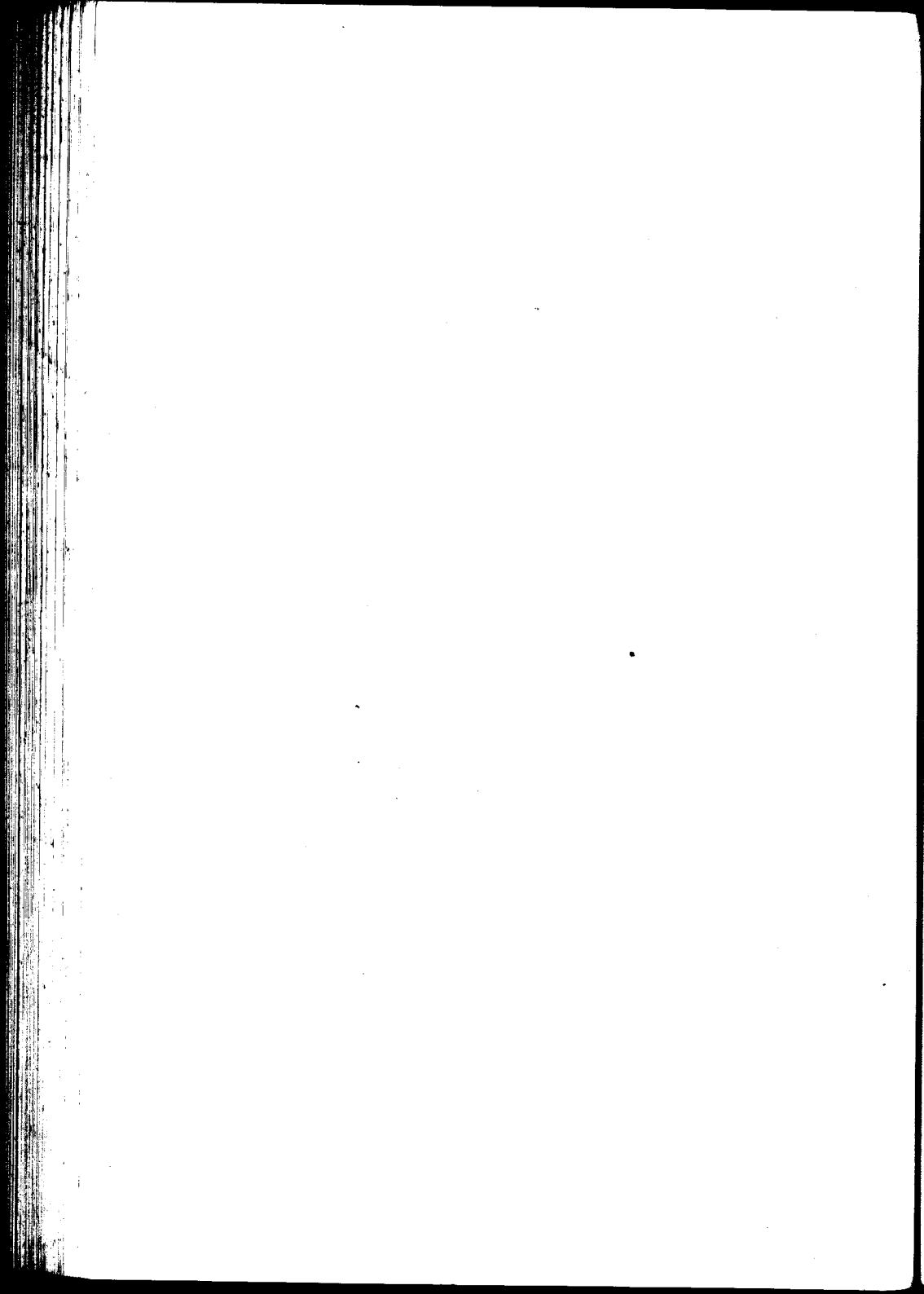
Digitalina	—	Nitrato de potasa	—
Theocine	—	Acetato de potasa	O
Urotropina	—	Cafeina	O
Lactosa	—	Urea	—
Glucosa	- -	Escila	—

Tenemos además un medicamento de uso continuo: el calcio y sus derivados. El cloruro de cal-

cio, como también el lactato, tienen una acción inmediata sobre la acción de los hemolisinas, disminuyendo de inmediato el poder hemolítico del suero.

CAPITULO III

Método adoptado e interpretación de los resultados



Para poder efectuar el estudio de las hemolisinias en los sueros normales y patológicos y las relaciones existentes entre la hemosensibilizatriz natural y la alexina. Se ha tratado de encontrar un método apropiado para poder avaluar el poder hemolítico, con la mayor exactitud posible. Antes de abordar el método adoptado, como también la interpretación de sus resultados, haremos una breve reseña de los diversos métodos conocidos hasta el presente.

Métodos precedentes

Muchos autores han ensayado el dosage del poder hemolítico de los líquidos del organismo, siguiendo todos métodos diversos.

En todos esos procedimientos las cifras obtenidas, representan solo valores relativos.

Cané y Vallée, como también Falloise, se concretan a señalar una hemolisis fuerte, débil y me-

diana, según la intensidad de coloración de la mezcla.

Nolf funda su procedimiento en la acción hemolítica del suero, en su mayor dilución, dejando la mezcla previamente en la estufa durante dos horas.

London toma en consideración la cantidad mínima de suero necesario para obtener la hemólisis completa de una cierta cantidad de glóbulos rojos, dejando la mezcla a la estufa durante 15 minutos o media hora. Designa el poder hemolítico (en presencia de los glóbulos hemolizados, mediante una fórmula empírica.

Madsen, para avaluar el poder destructivo de una lisina, determina la cantidad relativa de hemoglobina disuelta, esta determinación la lleva a cabo por el método colorimétrico de V. Fleisch.

Goussew en sus investigaciones, también ha empleado el hematímetro de Fleisch y espectrofotómetro de Glau; esa determinación la efectúa haciendo actuar una cantidad determinada de suero, en presencia de su exceso de glóbulos.

Melkikh y Kaliapine han calculado la cantidad de alexinas y de las hemolisinas en la fiebre recurrente, según el grado de hemólisis obtenida.

G. Mioni, en su estudio sobre el dosaje del poder hemolítico (1904), adopta un método interesante, el

cual describiremos en forma breve, lo mismo en lo que consiste su mecanismo.

El método de Mioni consiste en la cantidad de hemoglobina puesta en libertad por una cantidad dada de suero; es la forma — dice — que nos permitirá calcular exactamente la cantidad o riqueza en hemolisinas de cada suero.

Es necesario usar de ciertas precauciones, sin las cuales los resultados no son constantes. De los numerosos ensayos ha deducido la necesidad de observar las siguientes reglas:

A una determinada cantidad de líquido hemolítico globular. Se colocan los tubos en la estufa, tivo globular. Se colorean los tubos, en la estufa, a una temperatura de $-| -37^{\circ}$ ó $-| -38^{\circ}$ y se agita durante el tiempo que dura el experimento. No es indiferente dejar los tubos en reposo sin agitar; hay que evitar que se depositen los glóbulos del reactivo, en el fondo de los tubos, manteniendo con la agitación la homogeneidad de la mezcla.

Los tubos se mantiene en la estufa durante 45' ó 60'. Se centrifuga en seguida la mezcla, se decanta el líquido que contiene en solución la hemoglobina y se dosa ésta mediante el hemómetro de Fleisch-Miescher.

Si el líquido decantado tiene una intensidad de

coloración superior al máximum de la escala de Fleisch, se hace necesario practicar diluciones.

Sabemos que la cámara del aparato de Fleisch tiene una capacidad de 1 c.c. 5, se tiene inmediatamente una cifra que representa en unidades del hemómetro la cantidad de hemoglobina que se encuentra en 1 c.c. 5 del líquido decantado.

Por medio de un sencillo cálculo establece una relación entre la escala colorimétrica del aparato de Fleisch y la cantidad total, en peso, de la oxihemoglobina disuelta. Se sabe que 1 mgr. de oxihemoglobina disuelta en 1 c.c. 5 de agua destilada — capacidad de la cámara del aparato de Fleisch — da una coloración correspondiente a la cifra 105 de la escala colorimétrica. Basta dividir entonces por 105 el número de unidades obtenidas en el hemómetro, para que se tenga la cantidad de hemoglobina en miligramos. Conocida la cantidad de hemoglobina contenida en 1 c.c. 5 de líquido, sólo resta calcular la cantidad total de hemoglobina disuelta en todo el tubo donde la hemolisina ha actuado.

El cálculo no resultaría exacto, si no se tiene en cuenta una causa de error, debido a la presencia de glóbulos rojos intactos, que no han hemolisado.

Una ejemplo facilitará la comprensión de lo afirmado.

Suponiendo haber puesto en presencia de 10 c.c. de suero hemolisante, 10 c.c. de reactivo globu-

lar, este reactivo globular está constituido por 6 c.c. de líquido y 4 c.c. de glóbulos rojos. Por consecuencia, al empezar la operación la mezcla se compone de 16 c.c. de líquido — 10 c.c. del suero hemolítico y — 6 c.c. de la parte líquido del reactivo — y 4 c.c. de glóbulos rojos no disueltos.

Supongamos que al finalizar la operación el suero ha disuelto 1 c.c. de glóbulos rojos, la mezcla se presenta ahora constituida de 17 c.c. de líquido por 3 c.c. de glóbulos rojos no disueltos.

La hemoglobina correspondiente al centímetro cúbico de glóbulos disueltos, se ha diseminado en 17 c.c. de líquido y no en los 20 c.c. Por consiguiente, la cantidad de hemoglobina que habremos encontrado en 1 c.c. de líquido deberá ser multiplicado por 17, y no por 20, para obtener la cantidad total de hemoglobina disuelta.

G. Mioni, en sus investigaciones, opera con una mezcla de 10 c.c., compuesta de 5 c.c. de suero y de 5 c.c. de reactivo globular. En esas experiencias G. Mioni usa la siguiente tabla, donde al valor (Hb.) que es la hemoglobina disuelta en 1 c.c. de líquido, corresponde al volúmen total del líquido.

T A B L A

H. B. x c.c.	Líquido total	H. B. x c.c.	Líquido total
0.0400 gramos	8.10 c.c.	0.3928 gramos	9.10 c.c.
0.0792 »	8.20 »	0.4239 »	9.20 »
0.1170 »	8.30 »	0.4543 »	9.30 »
0.1547 »	8.40 »	0.4840 »	9.40 »
0.1911 »	8.50 »	0.5131 »	9.50 »
0.2267 »	8.60 »	0.5416 »	9.60 »
0.2614 »	8.70 »	0.5695 »	9.70 »
0.2951 »	8.89 »	0.5968 »	9.80 »
0.3286 »	8.90 »	0.6237 »	9.90 »
0.3611 »	9.00 »	0.6500 »	10 »

Un ejemplo de cálculo nos permitirá comprender la aplicación de este método:

Puesto en contacto 5 c.c. de suero y 5 c.c. de reactivo globular. Después de sacado de la estufa y centrifugado se obtiene un líquido muy coloreado y un depósito de glóbulos rojos aún intactos. Se toma 1 c.c. 5 de líquido y se lo diluye a 1|40. Se dosa con el hemómetro el líquido diluido y se encuentra, supongamos, la cifra 40. Se multiplica esa cifra por el grado de dilución 40 y tenemos que $40 \times 40 = 1.600$. Se divide 1.600 por 105 15 mgr., más o menos de hemoglobina que contiene el 1 c.c. 5 de líquido. Un c.c. contendrá 10 mgr.

Mirando la escala vemos que los glóbulos destruido es de 0 c.c 30. Hay que multiplicar 0 gr. 010 x 8,30 para tener la cantidad total de hemoglobina disuelta en el líquido. En el presente caso sería de 0 gr. 830.

Algunas experiencias preliminares nos serán de utilidad incalculable para la obtención de resultados lo más exactos posible. Para esto es necesario observar una serie de precauciones, que serán de utilidad práctica en las experimentaciones.

1.º La proporción entre el reactivo globular y la cantidad de líquido hemolítico debe permanecer constante en toda las experiencias. Mioni en sus investigaciones agrega siempre a un volumen de reactivo globular, un volumen igual de líquido hemolítico. Nosotros adoptamos en nuestro método, la misma cantidad de reactivo globular y cantidades decrecientes de líquido hemolítico. Mioni adopta ese procedimiento porque los glóbulos que constituyen el reactivo no todos tienen la misma resistencia.

Ha investigado la influencia de la cantidad de reactivo, mediante la siguiente experiencia:

‘Se distribuye en una serie de 6 tubos de 3 c.c. suero de buey obtenido por batido. Se prepara el reactivo globular de conejo, agregando al suero el reactivo en las proporciones siguientes:

Tubos	Suero de buey	Reactivo globular	Solución isotónica p. glob. conejo	Hemoglobina disuelta
I	1 c.c.	+ 1. — c.c.	+ 1. — c.c.	= 0.076 grs.
II	1 c.c.	+ 1.20 c.c.	+ 0.80 c.c.	= 0.084 >
III	1 c.c.	+ 1.40 c.c.	+ 0.60 c.c.	= 0.093 >
IV	1 c.c.	+ 1.60 c.c.	+ 0.40 c.c.	= 0.104 >
V	1 c.c.	+ 1.80 c.c.	+ 0.20 c.c.	= 0.109 >
VI	1 c.c.	+ 2. — c.c.	+ 0. — c.c.	= 0.118 >

Esta experiencia nos demuestra que si ponemos en contacto con la misma cantidad de suero, cantidades crecientes de reactivo globular, la cantidad de hemoglobina puesta en libertad aumenta progresivamente. Por ese defecto, tan manifiesto, es la causa que ha influido para inclinarnos hacia el método que hemos adoptado y modificado.

Es necesario tener presente que la hemolisis es más larga cuando las experiencias se realizan a una temperatura ordinaria; la hemolisis puede entonces prolongarse durante muchas horas. Pero en este caso tenemos una causa de error, cuando los hematíes empiezan a disgregarse espontáneamente.

La experiencia siguiente demuestra que la acción hemolítica se detiene completamente al cabo de cierto tiempo.

Se distribuye en una serie de tubos, 1 c.c. de suero de buey -|- 1 c.c. de reactivo globular de conejo. Los tubos son mantenidos durante tiempos variables y en seguida sometidos a una centrifugación enérgica. El resultado que se obtiene es el siguiente:

	15 minutos	—	0 grs. 018
	30 "	—	0 " 027
	45 "	—	0 " 030
	60 "	—	0 " 031
1 hora	45 "	—	0 " 031
2 horas		—	0 " 031
3 "		—	0 " 031
15 "		—	0 " 042

Vemos que después de cierto tiempo la hemólisis se detiene, aún existiendo un exceso de glóbulos no disueltos. Es entonces necesario en nuestros ensayos esperar ese límite de tiempo para conocer de una manera exacta la cantidad de hemoglobina que un suero puede poner en libertad.

MÉTODO ADOPTADO

Ferré y Mauriac preconizan un método que tiene el inconveniente de no tener el número nece-

sario de tubos para indicar el índice hemolítico de ciertas afecciones, que es sumamente elevado. Hemos adoptado el procedimiento y lo hemos modificado de acuerdo con las necesidades de la experimentación.

No es necesario para efectuar una operación 5 c.c. de suero y 5 c.c. de reactivo globular, que necesita Mioni; bastan 20 gotas de suero para efectuar una reacción, y con 1 c.c. de reactivo globular de conejo basta para tener 10 c.c. de emulsión globular, cantidad aún más que suficiente para efectuar 3 reacciones. Bastan tan sólo 3 ó 4 c.c. de sangre del enfermo, que nos suministrará las 20 gotas de suero necesario; este método viene a ser cómodo y práctico, por cuanto no hay necesidad de sangrar a un enfermo para poder obtener 5 c.c. de suero, cantidad necesaria para operar con el método de G. Mioni.

Este método consiste en lo siguiente:

Se dispone una primera serie de 9 tubos, de igual calibre y espesor en condiciones de asepsia ya indicada. En cada uno de los tubos de esta serie se vierten, con un cuenta gotas — debe usarse siempre el mismo, o bien la pipeta de Levaditi — dos gotas del suero a examinar y se va agregando a cada tubo cantidades crecientes de la solución de cloruro de sodio al 8 o/oo isotónica para los glóbulos rojos de conejo. Obtenemos así diluciones del suero, co-

mo podrá verse a continuación en el cuadro siguiente:

Tubos	Suero fresco a examinar	Solución de Cl Na al 8.‰	Observaciones
A	+ 2 gotas	+ 2 gotas	
B	+ 2 »	+ 4 »	
C	+ 2 »	+ 6 »	
D	+ 2 »	+ 8 »	
E	+ 2 »	+ 10 »	
F	+ 2 »	+ 12 »	
G	+ 2 »	+ 15 »	
H	+ 2 »	+ 20 »	
I	+ 2 »	+ 25 »	

Obtenidas las diluciones de suero cada vez más débiles, se coloca una segunda serie de tubos, numerados de 1 a 10.

Se coloca en todos los tubos de esta segunda serie 10 gotas de la solución 1|10 de glóbulos rojos de conejo. En el tubo N.º 1 se vierte, a más, 2 gotas del suero del enfermo a examinar — sin diluir — y en los otros 9 tubos, se vierten 2 gotas del suero diluido de los tubos de la 1.ª serie, a sus correspon-

dientes de la segunda, en la forma que se indica a continuación:

Tubos	Solución al decimo de gl. roj. de conejo	Suero diluido de la 1ra. série
1	+ 10 gotas	+ 2 gotas suero sin diluir
2	+ 10 »	+ 2 » » diluido tubo A
3	+ 10 »	+ 2 » » » » B
4	+ 10 »	+ 2 » » » » C
5	+ 10 »	+ 2 » » » » D
6	+ 10 »	+ 2 » » » » E
7	+ 10 »	+ 2 » » » » F
8	+ 10 »	+ 2 » » » » G
9	+ 10 »	+ 2 » » » » H
10	+ 10 »	+ 2 » » » » I

Practicada esta segunda operación, se coloca — después de previa agitación — los tubos de esta segunda serie a la estufa durante 15 ó 20 minutos.

Para obtener los resultados de la hemolisis, podemos abandonar los tubos a la temperatura ambiente del Laboratorio y dejar que se depositen los glóbulos rojos no hemolisados por sí solos. Pero

como decía en el anterior capítulo, al ocuparme del tiempo, como medio de modificar un resultado hemolítico, sucede que el contacto prolongado del suero salado y de los eritrocitos, producen una débil difusión de la hemoglobina, que viene a dificultar los resultados.

Para evitar este inconveniente es preferible centrifugar los tubos una vez sacados de la estufa. Esta operación debe durar 10 minutos como *mínimum*.

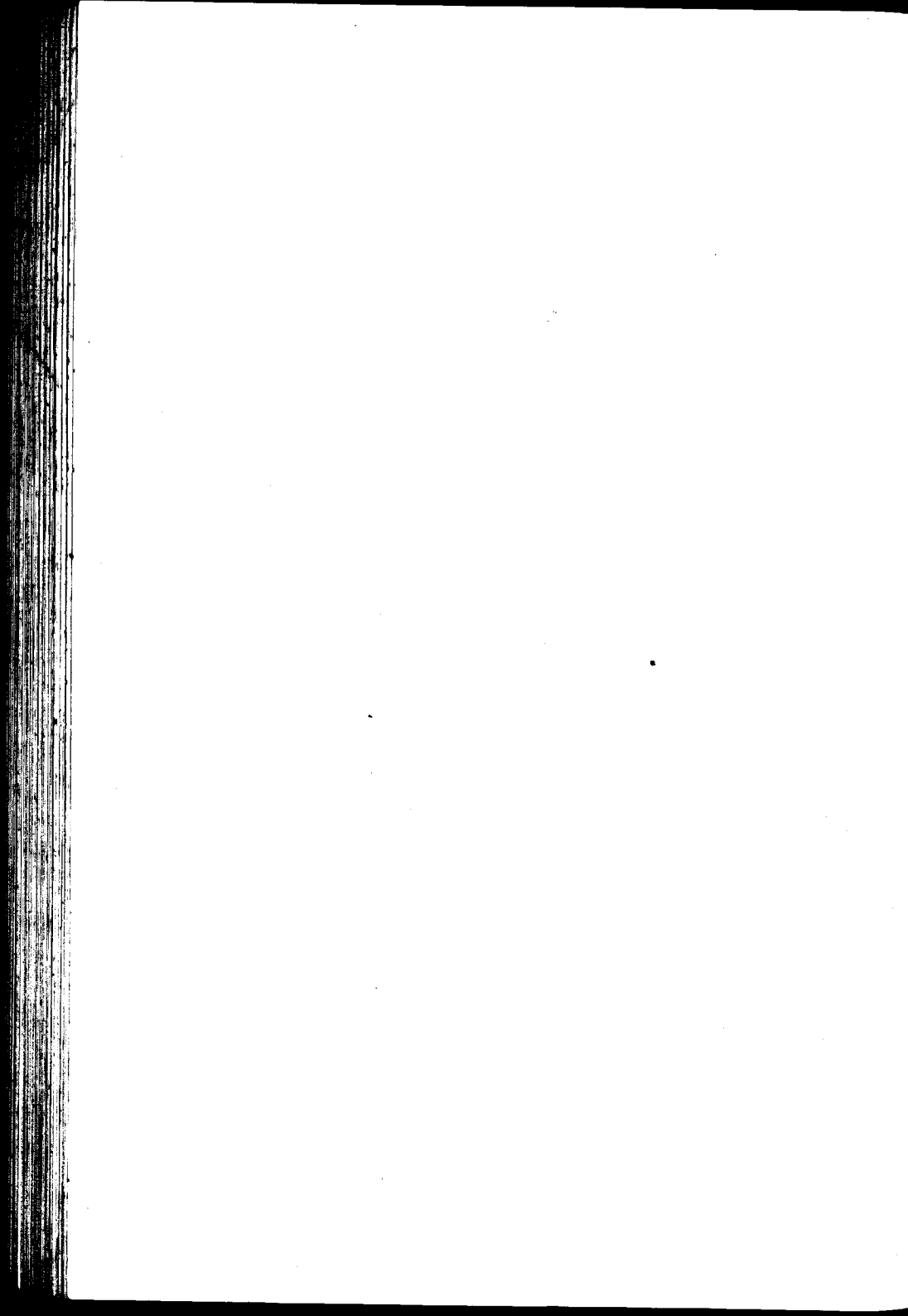
INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Este método, como se ha dicho, además de ser práctico, sencillo, tiene la ventaja de poder investigarse en el lapso de tiempo tan reducido de 25 minutos, el poder heterolítico de las heterolisinas de los sueros. El grado de hemólisis mínima se avalúa sólo tomando como valor a un tinte del suero bien diferenciado y de color francamente rosado; por ejemplo: supongamos que la hemólisis mínima se produce en el tubo N.º 7, se dirá que el poder hemolítico del suero es de 7; si fuese en 2, diremos que es de 2. El poder hemolítico puede ser nulo; en este caso en ningún tubo hay hemólisis. El poder hemolítico puede ser de 1 a 10; es decir, hay hemólisis en todos los tubos cuando es de 10. El poder

hemolítico de los sueros puede ser atenuado y aumentado. Es atenuado cuando hemolisan por debajo de 3 y aumentado cuando hemolisan por encima de 5. Correspondiendo la hemolisis media, 3 a 5, al poder hemolítico del suero normal.

CAPITULO IV

Las hemolisinas del suero al estado patológico



Habiendo estudiado en uno de los capítulos anteriores el diferente poder hemolítico de un mismo suero, en las diferentes partes del sistema circulatorio, al estado normal, y después durante los intercambios orgánicos. Hemos podido valorar la acción de éstos y la influencia manifiesta ejercida sobre las diferentes muestras de sueros.

Sabemos cuan numerosas son las causas que pueden influir en el poder hemolítico del suero normal. Sabemos también que el índice hemolítico del suero de un sujeto normal es de 3 a 5.

Ahora bien, con las investigaciones efectuadas podemos abordar el estudio de las hemolisinas del suero humano al estado patológico, con resultado satisfactorio en lo que concierne al diagnóstico de varias afecciones.

Estos estudios fueron empezados en el año 1902 por Camus y Pagniez, cuyos trabajos se encuentran condensados en la tesis inaugural de este último autor, que se ocupa de los líquidos normales

y patológicos del organismo, bajo el mismo punto de vista que nos ocupamos. Pagniez llega a la conclusión siguiente: “En el hombre la alexina no desaparece jamás del suero, sea cual fuere la afección dominante; la cantidad de alexina puede variar en el mismo individuo — como ya ha sido comprobado—; el suero más fuertemente hemolisante fué suministrado por un individuo al estado patológico; por el contrario el suero menos hemolítico fué suministrado por enfermos atacados de anemia perniciosa y de leucemia; por último — dice — parece aumentada la hemolisis en los sueros de individuos atacados de tuberculosis, de uremia y de asistolia”.

El poder aléxico de un suero se determina investigando la cantidad mínima de suero, capaz de hemolisar un número fijo de glóbulos, en presencia de una cantidad conveniente de amboceptores hemolíticos. Este punto de las condiciones hemolíticas de los sueros han sido enumerados en la primera parte de este trabajo, de acuerdo con las conclusiones establecidas por Mioni, en su estudio sobre las hemolisinas naturales.

El valor aléxico es tanto mayor cuanto menor es el volumen de suero necesario para obtener la hemolisis. Es variable — como se ha dicho — en diversas condiciones fisiológicas. Esa variabilidad se exagera en las infecciones, lo que ha inducido a

Gausserw a utilizar, a título de indicación pronóstica en la tuberculosis, sea cual fuese sus modalidades clínicas.

Jousset y Paraskeropoulos han dosado el complemento del suero humano, al estado normal y en diversos estados patológicos, habiendo obtenido los siguientes resultado: aumentado el poder aléxico en las siguientes afecciones: tuberculosis, sífilis terciaria, fiebre tifóidea, chanero blando, gota febril, diabetes insípida y disminuido el poder aléxico en la leucemia, cuyo suero no tenía poder hemolítico alguno.

Estos autores llegan a las conclusiones siguientes: 1.º El complemento en el hombre, aumenta en “ la mayoría de los estados patológicos, cuya cantidad de alexina puede alcanzar al doble o triple de la cantidad normal, que es en general escasa. 2.º El aumento de complemento no puede menos que indicar un trastorno del equilibrio orgánico — fatiga o enfermedad —. Sólo puede darnos indicaciones diagnósticas, todo lo contrario de lo que piensa Goussew, y aún menos, como medio de formular un pronóstico”.

“Tal es así que, en varios enfermos, el suero recogido en las cercanías de la muerte encerraban una cantidad de alexina equivalente a la constatada varios días o semanas antes”.

De nuestras observaciones, sobre 182 muestras

de suero humano, obtenidos de enfermos del Servicio de Clínica Médica del Dr. Rodolfo Lemos, del Hospital Rivadavia, y en cuyas historias clínicas obtenidas otras muestras han sido facilitadas por el Dr. Francisco Arrillaga, del Servicio de Clínica figuran los resultados obtenidos, otras muestras han sido facilitadas por el Dr. Francisco Arrillaga, del Servicio de Clínica Médica del Profesor Dr. Abel Ayerza; en cuanto a las muestras de infecciosas, las hemos obtenido de los diversos Servicios del Hospital Muñiz y de algunos enfermos del público. Del conjunto de nuestras observaciones — repito — creo poder deducir algunas conclusiones interesantes.

Antes de empezar a tratar esas conclusiones, indicaremos los diversos poderes hemolíticos del suero humano en las diferentes enfermedades, de acuerdo con nuestro método adoptado.

RESULTADOS DE LOS 182 CASOS OBSERVADOS

Nº de casos	Diagnósticos	Poder hemolítico	Observaciones
4	Asma esencial	5—6	
1	„ renal	8	
3	Anemia profunda	8	
2	Asistolia	9	
4	Apendicitis aguda	4—5	
1	Angiocolitis calculosa	10	
1	Adisoniano.	2	
2	Boceo exoftálmico	2—3	
3	Bronconeumonía	2	
3	Chanero duro	2	
7	„ blando	7—9	4 casos con adenitis ing. doble supurada.
1	Corca	2	
1	Cisto sareoma	2	
2	Cáncer pilórico.	1	
1	„ de estómago y útero	2	
1	„ „ „	1	
1	„ „ „ con metástasis	2	de hígado.
1	„ „ esófago	1	
1	„ „ mama y riñón D.	1	
1	Cardíaco negro (esclerosis de la pulmonar	1	
2	Congestión hepática	7	
2	Cirrosis atrófica	2—3	
2	„ hipertrófica	6	
1	Congestión renal	8	origen grávido.
2	„ „	9	„ tóxico.
4	Diabetes sacarina	2—3	
1	Demencia senil	1	

(A LA VUELTA)

RESULTADOS DE LOS 182 CASOS OBSERVADOS

No de casos	Diagnósticos	Poder hemolítico	Observaciones
2	Etafiloéccia	7—9	
4	Erisipela	9—10	
3	Embarazo	7—8	al octavo mes.
2	Epilepsia esencial.	1—2	
2	Endocarditis infecciosas	7	
2	Estrechez mitral	5	
1	Esclerosis pulmonar.	1	con neo de mana y síflis
3	Histeria	2	
2	Hemiplegias con derrames	8—10	
1	Hemofilia	10	
4	Influenza	6—7	
2	Insuficiencia tiroidea	1	
2	„ tiroidea-ovárica	2	
3	Ictericia catarral.	8	
2	Nefritis aguda	7-8	
6	„ crónica.	6	
3	Leucemia	1—2	
1	„ y quiste hidatídico?	7	
1	Littrasis renal	7	
6	„ biliar.	8	con ictericia
3	Pneumonia	1	
2	Peliosis reumatismal	8	
1	„ de Lanceraux.	9	
2	Palicitemia rubra.	5—10	
1	Pionefrosis calcuosa.	3	
4	Pleuresía serofibrinosa.	7—8	
1	Poliserositis.	8	
1	Paratifoidea.	1	
5	Quistes hidatídicos hígado	9	
1	„ „ pulmón.	8	

RESULTADOS DE LOS 182 CASOS OBSERVADOS

No de casos	Diagnósticos	Poder hemolítico	Observaciones
3	Rubeola	7	
2	Reumatismo crónico.	3	
3	„ poli-articular agudo	6—7	
7	Sífilis terciaria.	8	con ataques agudos.
1	„ hereditaria	2	
1	„ del hígado	9	con hipertensión porta y ascitis.
5	Sarampión.	8—9	en plena erupción.
1	Sarcoma renal	1	
1	„ de pleura	1	
6	Tifóidea	7—9	
10	Tuberculosis pulmonar.	7—10	en sus diversos períodos.
2	„ articular	7 *	
4	„ ósea	8—9	Mal de Pott.
2	„ renal	9—10	
2	„ intestinal y pulmonar	10	
1	„ ciego	9	
1	Uremia	9	
3	Ulcera redonda	9—10	

182 Casos

El poder hemolizante del suero de individuo normal es de 3 - 5, según lo hemos observado en tres sujetos sanos. Teniendo el índice hemolítico que corresponde al suero humano normal, podemos abordar el estudio en conjunto de nuestras observaciones.

1.° En la mayoría de los estados patológicas el poder hemolizante del suero varía sin regla aparente; en la erisipela, sarampión, rubeola; en pleno período febril — de crupección — hemos encontrado los siguientes resultados: 9 y 10 para la erisipela; 8 y 9 para el sarampión, y 7 para la rubeola; como vemos, el poder hemolizante del suero se presenta aumentado.

2.° Hay ciertas afecciones en las cuales el poder hemolizante del suero se presenta aumentado de una manera casi constante: en la fiebre tifóidea y en el embarazo el poder hemolítico varía de 7 a 9 y de 7 a 8, respectivamente. En las icterias, en los estados de asistolia, en las congestiones renales y hepáticas, en la uremia, en la sífilis terciaria, chancro blando, úlcera redonda, nefritis agudas, el poder hemolítico de los sueros correspondientes a estas afecciones, es de un índice siempre elevado, como puede verse fácilmente el cuadro precedente.

En las nefritis crónicas el suero presenta un índice hemolítico débilmente aumentado.

En la tuberculosis, sea cual fuese su modalidad clínica, es donde se observa constantemente más acentuado el poder hemolizante de los sueros; el índice hemolítico es de 7 a 10.

3.° En determinados estados patológicos encontramos regularmente el poder hemolizante de los sueros sumamente débil: lo encontramos en todos

los estados caquéticos, consecutivo a un neoplasma, a una cirrosis, a una diabetes; en estos estados el poder hemolisante es, a lo sumo, de 1 a 2. Los enfermos atacados de neoplasma, de cualquier órgano que sea, sin estar en caquexia, tienen un índice hemolítico sumamente bajo, de 1 a 2. Los mismos sucede en los diabéticos, cuyos sueros hemolisan en 2 y 3.

En las leucemias, el poder hemolisante del suero es muy débil; en tres enfermos he encontrado un índice hemolítico de 1-2, y en un cuarto enfermo un índice de 7; pero en este último enfermo, a pesar de ser negativa la reacción de Guedini, existe en la sangre una fuerte eusinofilia. Es necesario en este caso tener presente la función autohemolítica del bazo. Nuestros resultados concuerdan con los obtenidos por Faltrain, Pagniez y Peyton Rous, quienes comprobaron el poder hemolisante fuertemente atenuado.

Por último se observa una disminución neta y constante del poder hemolisante de los sueros en las afecciones pulmonares de origen pneumocócica.

El poder hemolisante lo hemos encontrado constante de 1, y es de notar que a medida que evoluciona la enfermedad va adquiriendo el suero paulatinamente su poder hemolisante, para colocarse en el índice normal de 3-5 al terminar la enfermedad. También la red fibrinosa va desapareciendo sensi-

blemente; el suero y el elemento fibrinoide ocupan en la neumonia las $\frac{2}{3}$ partes del total de sangre.

En conclusión, ¿tales resultados presentan acaso un interés práctico para el diagnóstico? Creemos que los índices hemolíticos son de utilidad como un medio de contribución al diagnóstico.

Dos ejemplos servirán para fundamentar esa conclusión: Supongamos, por ejemplo, un enfermo con adenitis cervical y axilar; su suero hemolisa en 9; se encuentra aumentado; esto es más que suficiente para eliminar el diagnóstico de leucemia, cuyo suero tiene un poder hemolítico de índice bajo: 1 - 2; nos inclinamos por el de tuberculosis ganglionar, cuyo índice hemolítico se presenta siempre aumentado.

En los casos dudosos entre una afección ulcerosa y cancerosa del estómago las hemolisinas pueden ser de gran utilidad. En las úlceras redondas el poder hemolítico está aumentado, hemolisan en 10, mientras que en el neoplasma gástrico la hemólisis se efectúa en 1 - 2.

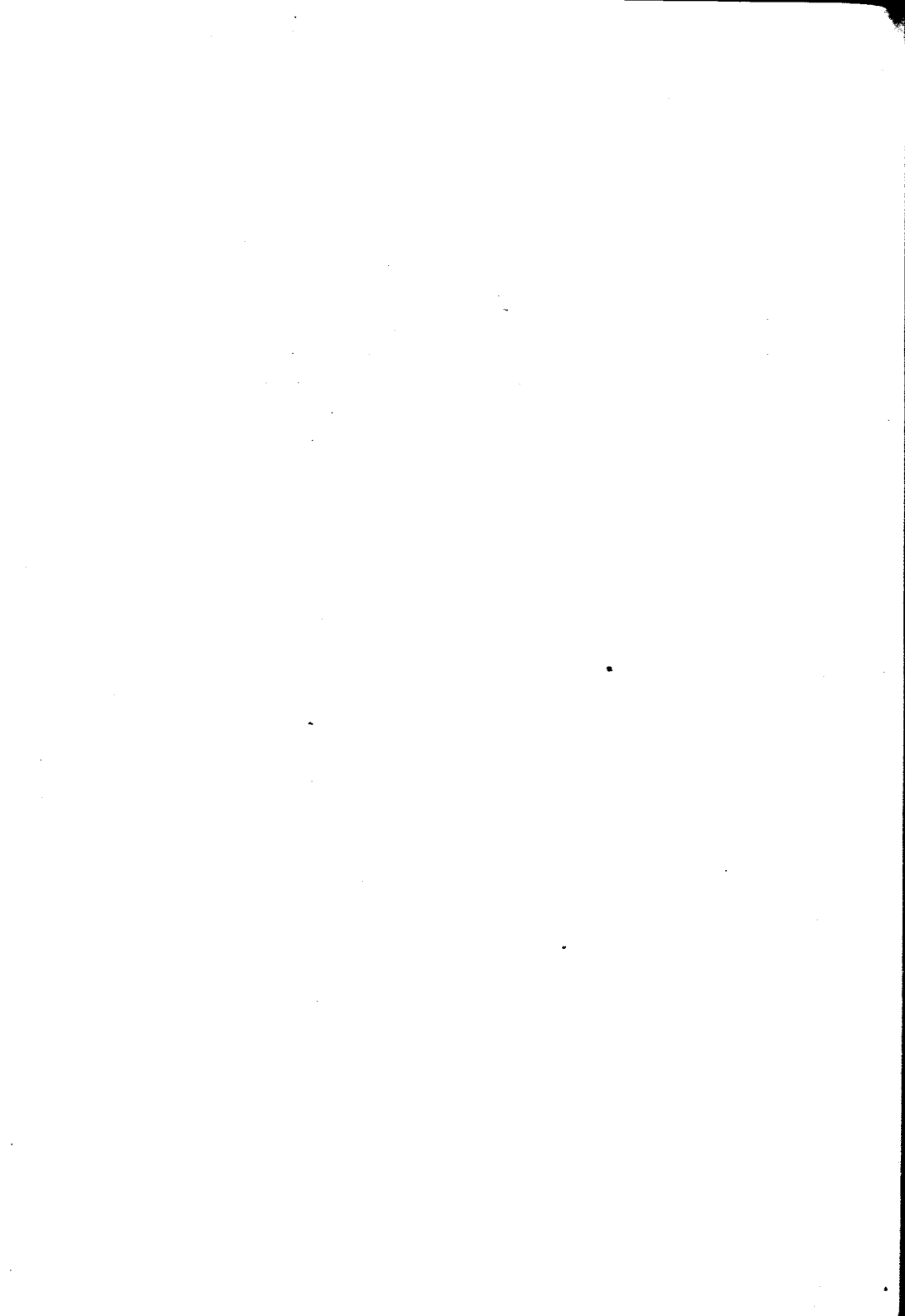
Para terminar, transcribiremos un caso relatado por G. Ferré; se trata de un enfermo en un estado bastante grave, que ingresa al Servicio del Profesor Amozan; se constata una infiltración en masa de todo el pulmón derecho con expectoración purulenta; no se encuentran en el examen de esputos bacilos de Koch, pero la evolución general de la en-

fermedad autoriza el diagnóstico de tuberculosis aguda, forma de neumonia caseosa. Pero el poder hemolítico del suero del paciente era sumamente atenuado: era de 2; no era, por consiguiente, una hemólisis correspondiente a la afección diagnosticada por cuanto la tuberculosis tiene siempre un índice hemolítico elevado. La evolución de la enfermedad vino a confirmar el diagnóstico de la afección neumocócica que había exteriorizado el poder hemolisante del suero.

En resumen, creemos que las hemolisinas son de utilidad como un medio de contribución al diagnóstico clínico.

ANTONIO B. RIBEYROLLES.

Marzo 13 de 1916.



Bibliografía

- Stewart*. — The behaviour of the haemoglobin. —
Journ. of physiology. — 1899.
- Stem (L.)* — Pouvoir hemolytique des sérums sanguins chez différentes espèces animales.—Soc. Biologie. — 1904.
- Ascoli, M.* — Isoagglutinine und Isolysines menschlicher Blutsera. — Munchen med. Woch. — 1901.
- Bachman A.* — Las teorías de la Inmunidad.—1905.
- Belfanti et Carbonne.* — Produzione di sostanze tossiche nel siero di animali inoculati con sangue eterogéno. — 1898.
- Batelli.* — L'Hemolyse in vivo chez les animaux normaux. — Société de Biologie. — 1904.
- Bordet.* — Les sérums hemolytiques, leurs antitoxines et les theories des sérums cytolytiques. — Annales del Institut Pasteur, pág. 257.—1900.
- Bordet.* — Sur le mode d'action des sérums cytoly-

- tiques et sur l'unité de l'alexine dans un même sérum. — Ann. Inst. Pasteur. — 1901.
- Bordet.* — Sur le mode d'action des antitoxines sur les toxines. — Ann. Inst. Pasteur. — 1904.
- Bordet.* — Les propriétés des sensibilisatrices et les théories chimiques de l'immunité. — Ann. Inst. Pasteur. — 1904.
- Bordet et Gay.* — Sur les relations des sensibilisatrices avec l'alexine. — Ann. Inst. Pasteur. — 1906.
- Branca A.* — Précis d'histologie. — 1906.
- Congrès de 1900. — Section d'Anat. Path. — Résistance des glob. rouges. — Discussion.
- Calugareau.* — Influence de la durée de contact sur la résistance des globules rouges. — Soc. Biologie. — 1901.
- Camus et Gley.* — Recherches sur l'action physiologique du sérum d'anguille. — 1898.
- Camus et Pagnez.* — Variabilité de l'alexine dans les sérums pathologiques. — C. R. Biologie. — 1901.
- Camus et Pagnez.* — Existence d'une substance antihémolytique dans le sérum humain.
- Cantacuzéne.* — Variations quantitatives et qualitatives des globules rouges provoqués chez le lapin par les injections de sérums hémolytiques. — Ann. Inst. Pasteur. — 1900.
- Calmette.* — Sur l'action hémolytique du venin de

- cobra. — C. R. de l'Acad. des Sciences. — 16 Juin, 1912.
- Carré et Vallée.* — Sur les substance toxiques de sérums normaux. — 1902.
- Calmesse A.* — Les venins. — Les animaux venimeux. — Et. la serotherapie antivenimeuse. — 1907.
- Chanel.* — Recherches sur la resistance des hématies. — 1880.
- Chanffard et N. Fiessinger.* — Ictère congenital hemolytique avec lesions globulaires. — Société médicale des hôpitaux de Paris. — Seance du 8 Novembre, 1907.
- Chalier J.* — Ictère hemolytique acquis au cours des cirrhoses alcooliques du foie. — Revue de médecine, volume jubilaire de M. le professeur Lepine. — Novembre, 1811.
- Daremberg.* — Povoir destructeur du sérum sanguin sur les G. R. — Soc. Biologie 1890.
- Donval M.* — Histologie normal.
- Ehrlich et Sachs.* — Neber die Wielheit der Comente des serums. — Berlín Kl. Woch 1902.
- Ehrlich et Sachs.* — Mode d'action des antiambrocepteurs. — Berl. Kl. Woch. — 8 Mai, 1905.
- Ehrlich et Morgenroth.* — Zur theorie der Lysinwerkimg. — Berl. Kl. Woch., 1899. — id. 1899, pág. 481, id 1900, p. 483, id 1901 páág. 250, id 1901, pág. 569 y 1901, pág. 598.

- Falloise (A)*. — Sur l'existence de l'alexine hémolytique dans le plasma sanguin. — Bull. Acad. Roy. — Belgique, 1903.
- Fallorse*. — Sur l'existence de l'alexine hémolytique dans le plasma sanguin. — 1903.
- Froin*. — Hématolyse et hémotogénese bactériologique.
- Gaisbock (Felix)*. — Estudio sobre las anemias hemolíticas con eritrocitosis.—Deutsches Archiv für Klinische Medizin., tomo cx. — 1910.
- Gengou*. — Origine de l'alexine. — Ann. Inst. Pasteur. — 1901.
- Giuseppe Bellei*. — L'hémolise par le plasma et le sérum sanguin. — Munch. méd. Woch. N.º 2 — 1904.
- Gilbert y Weinberg*. — Tratado de hematología.
- Gousser (G. A)* — Contribution a l'étude de la détermination quantitative des alexines dans les sérums humains. — Rouski Vrach, 9 fevrier 1902, 3 Août 1902.
- Gruber*. — Sur la théorie des anticorps. — Munchener, Medic.—Wochenschrift, 12, 19, 26.—Novembre 1901.
- Gonsserv*. — Ronsski Vradit. — 1902.
- Hamburger*. — Ueber den Einfluss Chemischer. — Verbindungen auf Blutkörperchen in Zusammenhang mit ihren Moleculargewichten.—

- Arch. für Physiol. de du Boix. — Reymond
1897.
- Hamburger.* — Ueber die durch Salz und Rohrzucker. — Loesungen bewirkten Veraenderungen der Blutkoerperchen. — Id. 1887.
- Hamburger.* — Die isotonischen Koeffizienten un die roten Blutkoerperchen. Zeitschrift. für diephysik. — Chmie, IV, 4.
- Hamburger.* — Sur une propriété nourelle des hematies. — Revue générale des sciences.—1893.
- Hamburger.* — Différence entre la constitution du sang veineux et du sang artériel. — Arch. de Physiol. — Abril 1893.
- Hamburger.* — Ueber deu Einflux von Sacure und Alkali anf. die Permeabilitaet der lebendigen Bluttkoerperchen nebst einer Bemerkun. ueber die Lebensfuhingkeit des defibrinirtes Blut — Arch. f. Phusiol. — 1893.
- Hamburger.* — Die osmotische Spaurkraft in des medicinnischen Wissenechaften Wirchow's. — Arch. Bd. — 140. — 1895.
- Hamburger.* — Sur la resistance des globules ronges. Analyse des fenomenes et proposition pour mettre de l'unité dans les evaluations. Journ. de Phys et Path. generale. — Nov. 1900.
- Hamburger.* — La resistance des G. R. Rapport Congrès. — 1900. — (Section d'Anat. Path.)
- Hayen.* — Du sang.

- Hedin.* — Der Haematokkrit, ein neuer apparat.
pág. 134. — Untersuchungen sint dem Haematokrit, pág. 360. — Skandinavich. — Arch.
- Hedón G.* — Compendio de fisiología.
für Physiol. — 1891.
- Hedin.* — Ueber die Einwirkung. einiger Wasserloesungen anf. dos volumen rothen Blutkoerperchen. pág. 207.
- Hedón.* — Ueber den einfluss von Salzloesungen
pág. 238. id. — 1895.
- Hedón.* — Ueber die permeabilitaet der Bluthoerperchen. — Plüger's Arch. — 1897.
- Hedón.* — Conditions de destruction des globules rouges par certains agents chimiques. — Soc. Biologie. — 1900.
- Hedón.* — Action globulicide des glycosides et conditions de milieu qui la favorisent ou l'empêchent. — Id. pág. 771. Arch. de Pharmacodynamie. — 1901.
- Henri et Calugareau.* — Sortie des sels des globules sanguins, places dans un milieu hipotonique. — Acad. des Sciences. — 1902.
- Halphern.* — Les hemolysinis dans les serum humain. — Berliner Klin Woeh. — 1902.
- Henri (V).* — Recherches physico-chimiques sur l' Hemolyse. Acad. des Sciences. — 1905.
- Jonssset y Paraskeropoulos.* — Dosage del poder aléxico de los sueros.

Koeppe. — Ueber den quellungsgrad der rothen Blutkoerpeachen. Arch. de du Bois-Reymond. — 1895.

Koeppe. — Der osmotische Drueh. als Ursache des Sustanches zwischen rothen Blulkoerchen imd Salzloesungen. — Pfluger's Arch. — 1897.

Koeppe. — Ueber hemolyse XXI. Congress fur in-nere Medizin. — 1904.

Kolle W. et Hetsch H. — La bacteriologie experi-mentale, appliquéés a l'étude des maladies in-fectieuses. — 1911.

Laboratorio de Fisiología Experimental de la fa-cultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Buenos Aires. "Trabajos de Laboratorio" publicados y reunidos con motivo del congreso médico del Centenario 1907 - 1910.

Langlors P. et H. de Varigny. — Nuevos elementos de Fisiología.

Landros. — Traité de physiologie.

London. — Contribution a l'étude des hemolysines. Arch. de St. Petersburg. — 1901.

Luciani. — Tratado de fisiología humana.

Malassez. — Methode colorimétrique pour appre-cier la resistance globulaire. Soc. Biologie. --- Memoires. — 1873.

Malassez. — Les preimieres reherches sur la resis-tence des globules rouges. — Soc. Biologie. — 1895.

- Malassez.* — Solutions salées dites physiologiques.
— Soc. Biologie. 1896.
- Malassez.* — Pretendus liquides conservateurs des
globules rouges. — Soc. Biologie. — 1896.
- Manwaring H. W.* — Factors in hemolysis. — In
Journ of. infections diseases. — 1908.
- Maragliano.* — Sulla resistenza dei globulirossi del
sangue. — Acad. di Genova. — 1885.
- Maragliano A. Castellino.* — Necrobiose lenta des
globule rouges a l'état normal et pathologique.
— Arch. di clin, med. Milano. — Arch. ital. de
biologie. t. XIX, pag. 55. — 1893.
- Madsen.* — Zeitschrift für Hygiene. — 1899.
- Maragliano.* — Azione del siero di sangue sui glo-
buli rossi. — Congress. de Med. int. — Milano.
— 1892.
- Melkikh et Kaliapene.* — Contributions a l'étude
des alexines dans la fièvre récurrente Ronsski
Vracht. — 1903.
- Mioni.* — Dosage du pouvoir hémolytique. — 1904.
- Mouisset, Châlier J. et L. Nové.* Jossserand, con-
tributini a l'étude des ictere hémolytiques ae-
quis. — Lyon medical. — 23 Janvier. — 1910.
- Mosso.* — Recherches sur la nature du venin qui se
trouve dans le sang de l'anguille. — Journ. de
phys. et path. gen. — 1899.
- Mosso.* — Resistence des globules rouges. Arch. ital.
de Biologie. — 1887.

- Maiewzky*. — Recherche sun les precipitines, les hemolysines, les antihemolysines. — Arch. Sciencis Biologiques de Saint-Petersburg. — 1904.
- Morgenroth (F)*. — Komplimentablenkkung durch hamolytiches amboceptorem (Institut. experimentille terapie. Krankfurt a Mein). — 1904.
- Mioni*. — Contribution a l'etude des hemolysines naturelles. — Ann. Inst. Pasteur. — 1905.
- Nolf*. — Globulolyse et pression osmotique. — Ann. Inst. Pasteur. — 1900.
- Nolf*. — Le mecamsine de la globulolyse. — Ann. Inst. Pasteur. — pág. 636.
- Nolf*. — La pression osmotique, et physiologique. — Revue generale des Sciences. — 1901.
- Nolf*. — Hemolyse. — Soc. de Physiologie. — Th. Richer.
- Nolf*. — De l'origine du complement hemolytique et de la nature de l' hemolyse par les sérums. — Bruxcelas. Acad. Royale Belg. — 1910.
- Nicolau*. — Sur les anticops hemolytiques naturels chez les animaux domestiques.—Dosage de ces anticorps. — Soc. de Biologie. tomo LXIX.
- Nolf*. — Contribution a l'etude des serums antihhematiques. — 1900.
- Remy*. — Etude de sérums hemolytiques. — Ann. Inst. Pasteur. — 1905 et 1906.
- Sachs (H)*. — Diehamolysine un ihre Beduntung.

- der komplement in salzfreien Medinn. Berl. — Kl. Woch. — 1907.
- Rehns et Roux.* — Contribution a l'étude des glucosides hemolysants. — Soc. Biologie. — 1902.
- Rehns et Roux.* — Action comparative el synergie de quelques glucosides hemolysants. — Sociedad Biologie 1902.
- Robín A. et Fiessinger.* — Ictère hemolytique acquis avec fragilite globulaire au cours d'une cirrhose alcoolique. — Bull. et Mém. de la Soc. Méd. des hopitaux. — 12 mai. — 1911.
- Troisier (J.)* — Role des hemolysines, dans la ge-Munch. Med. Woch. — 1904.
- Soler F. L. y Honssay B. A.* — Sumario del Curso de Fisiología del prof. Dr. Horacio G. Piñero.
- Troisier (F.)* — Role des hemolycines, dans la genere des pigments biliaries et de l'urobiline. — Thèse Paris. — 1910.
- Thibaut.* — Toxicité générale du sérums humain et hemolyse. — These Paris. — 1913.
- Troisien J. et Guillain.* — Physiologie pathologique de l'hematome pleural traumatique. — Semaine med. — mars. 1909.
- Vibert Ch.* — Precis de Toxicologie. — 1907.

Buenos Aires, Marzo 16 de 1916.

Nómbrese al señor Consejero Dr. Marcial V. Quidoga, al profesor titular Dr. Ignacio Allende y al profesor suplente Dr. Franch L. Soler, para que, constituídos en comisión revisora, dictaminen respecto de la admisibilidad de la presente tesis, de acuerdo con el Art. 4.º de la "Ordenanza sobre exámenes".

E. BAZTERRICA

J. A. Gabastou
Secretario.

Buenos Aires, Marzo 25 de 1916.

Habiendo la comisión precedente aconsejado la aceptación de la presente tesis, según consta en el acta núm. 3060 del libro respectivo, entréguese al interesado para su impresión, de acuerdo con la Ordenanza vigente.

E. BAZTERRICA

J. A. Gabastou
Secretario.



30620



PROPOSICIONES ACCESORIAS

I

Importancia diagnóstica de las hemolisinas.

Marcial V. Quiroga.

II

Hemolisinas en la úlcera simple gástrica.

Ignacio Allende.

III

Valor pronóstico de las hemolisinas.

Franck L. Soler.



