



1917

N.º 3230

UNIVERSIDAD NACIONAL DE BUENOS AIRES  
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

*Man. B. 111.15*

CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO  
DE LA  
COAGULACION SANGUINEA

TESIS

PRESENTADA PARA OPTAR AL TÍTULO DE DOCTOR EN MEDICINA

POR

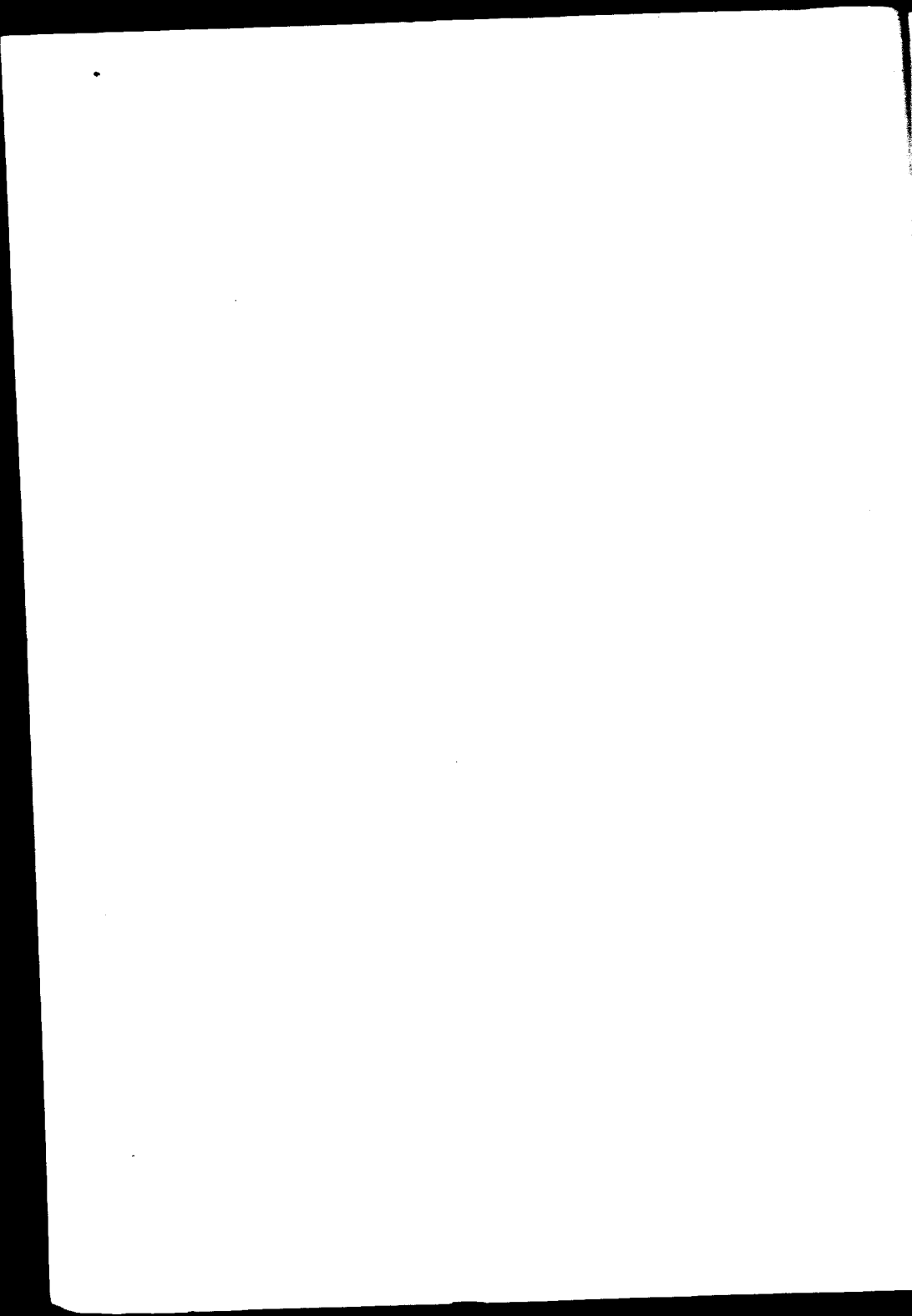
ADOLFO BERGMAN



BUENOS AIRES  
'LA SEMANA MÉDICA' IMP. DE OBRAS DE E. SPINELLI  
2254 - Córdoba - 2254  
1917



CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO  
DE LA  
COAGULACION SANGUÍNEA



Año 1917

N.º 3230

UNIVERSIDAD NACIONAL DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

---

CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO  
DE LA  
COAGULACION SANGUINEA

---

TESIS

PRESENTADA PARA OPTAR AL TÍTULO DE DOCTOR EN MEDICINA

POR

ADOLFO BERGMAN



BUENOS AIRES

«LA SEMANA MÉDICA» IMP. DE OBRAS DE B. SPINELLI

224 — Córdoba — 224

1917

*Handwritten notes:*  
M...  
S...  
1917

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

*(Artículo 162 del R. de la F.)*

# FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

## ACADEMIA DE MEDICINA

### Presidente

DR. D. DOMINGO CABRED

### Vice-Presidente

DR. D. DANIEL J. CRANWELL

### Miembros titulares

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

### Secretario general

DR. D. MARCELINO HERRERA VEGAS

### Secretario anual

Vacante.



# FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

---

## ACADEMIA DE MEDICINA

### **Miembros Honorarios**

1. DR. D. TELÉMAGO SUSINI
2. > > EMILIO R. CONI
3. > > OLHINTO DE MAGALHAES
4. > > FERNANDO WIDAL
5. > > ALOYSIO DE CASTRO



# FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

---

## **Decano**

DR. D. ENRIQUE BAZTERRICA

## **Vice Decano**

DR. D. CARLOS MALBRÁN

## **Consejeros**

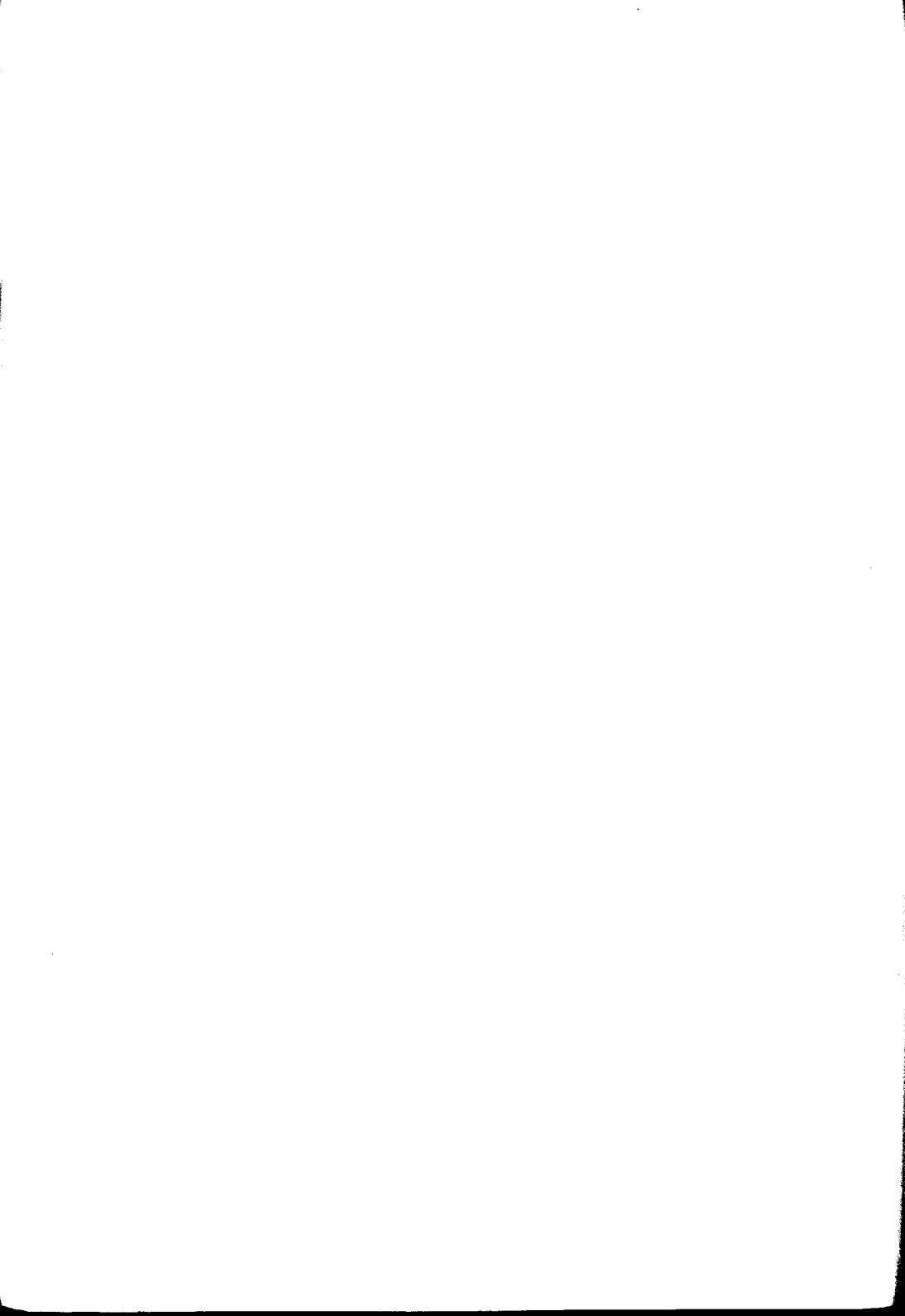
DR. D. ENRIQUE BAZTERRICA  
» » ELISEO CANTÓN  
» » ANGEL M. CENTENO  
» » DOMINGO CABRED  
» » MARCIAL V. QUIROGA  
» » JOSÉ ARCE  
» » EUFEMIO UBALLES (con lic.)  
» » DANIEL J. CRANWELL  
» » CARLOS MALBRÁN  
» » JOSÉ F. MOLINARI  
» » MIGUEL PUIGGARI  
» » ANTONIO C. GANDOLFO (suplente)  
» » FANOR VELARDE  
» » MARCELO VIÑAS  
» » IGNACIO ALLENDE  
» » PASCUAL PALMA

## **Secretarios**

DR. D. PEDRO CASTRO ESCALADA

» » JUAN A. GABASTOU

---



# ESCUELA DE MEDICINA

---

## PROFESORES HONORARIOS

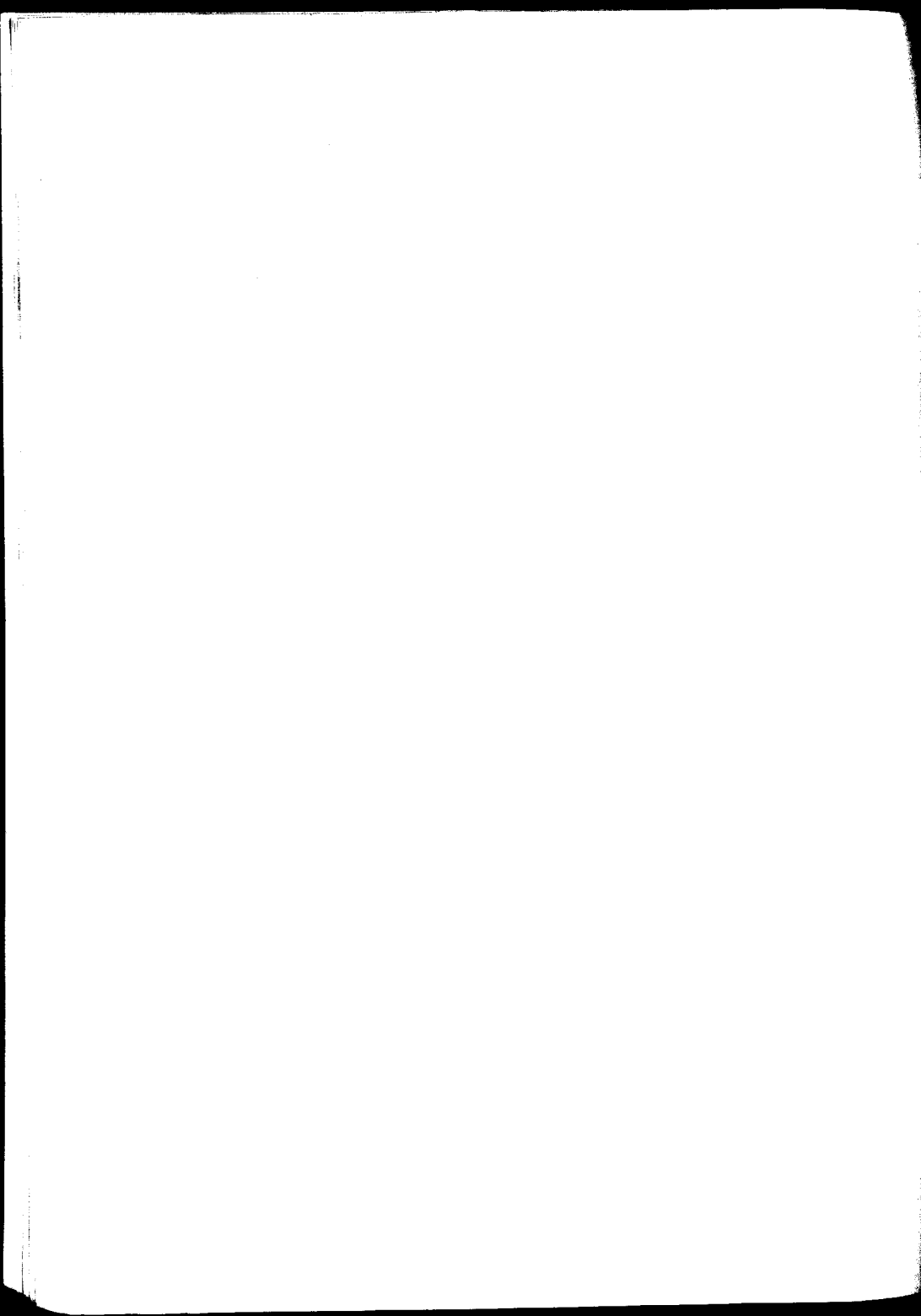
DR. ROBERTO WERNICKE

- » JUVENCIO Z. ARCE
- » PEDRO N. ARATA
- » FRANCISCO DE VEYGA
- » ELISEO CANTÓN
- » JUAN A. BOERI
- » FRANCISCO A. SICARDI



## ESCUELA DE MEDICINA

Asignaturas	Catedráticos Titulares
Zoología Médica .....	DR. PEDRO LACAVERA
Botánica Médica .....	» LUCIO DURANAÑA
	» RICARDO S. GÓMEZ
Anatomía Descriptiva .....	» RICARDO SARMIENTO LASPIUR
	» JOAQUIN LOPEZ FIGUEROA
	» PEDRO BELOU
Histología .....	» RODOLFO DE GAINZA
Física Médica .....	» ALFREDO LANARI
Fisiología General y Humana.	» HORACIO G. PIÑERO
Bacteriología .....	» CARLOS MALBRAN
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 .....	» TELÉMACO SUSINI
Materia Médica y Terapéutica.	» JUSTINIANO LEDESMA
Patología Externa .....	» DANIEL J. CRANWELL
Medicina Operatoria .....	» LEANDRO VALLE
Clínica Dermato-Sifilográfica .	» BALDOMERO SOMMER
» Génito-uritarias.....	» PEDRO BENEDIT
Toxicología Experimental ....	» JUAN B. SEÑORANS
Clínica Epidemiológica.....	» JOSÉ PENNA
» Oto-rino-laringológica .	» EDUARDO OBEJERO
Patología Interna .....	» MARCIAL V. QUIROGA
Clínica Oftalmológica .....	(Vacante)
	» LUIS GÜEMES
	» LUIS AGOTE
» Médica .....	» IGNACIO ALLENDE
	» ABEL AYERZA
	» PASCUAL PALMA
	» DIÓGENES DECOUD
» Quirúrgica.....	» ANTONIO C. GANDOLFO
	» MARCELO T. VIÑAS
» Neurológica .....	» JOSÉ A. ESTEVES
» Psiquiátrica .....	» DOMINGO CABRED
» Obstétrica.....	» ENRIQUE ZÁRATE
» Obstétrica.....	» SAMUEL MOLINA
» Pediátrica .....	» ANGEL M. CENTENO
Medicina Legal .....	» DOMINGO S. CAVIA
Clínica Ginecológica.....	» ENRIQUE BAZTERRICA

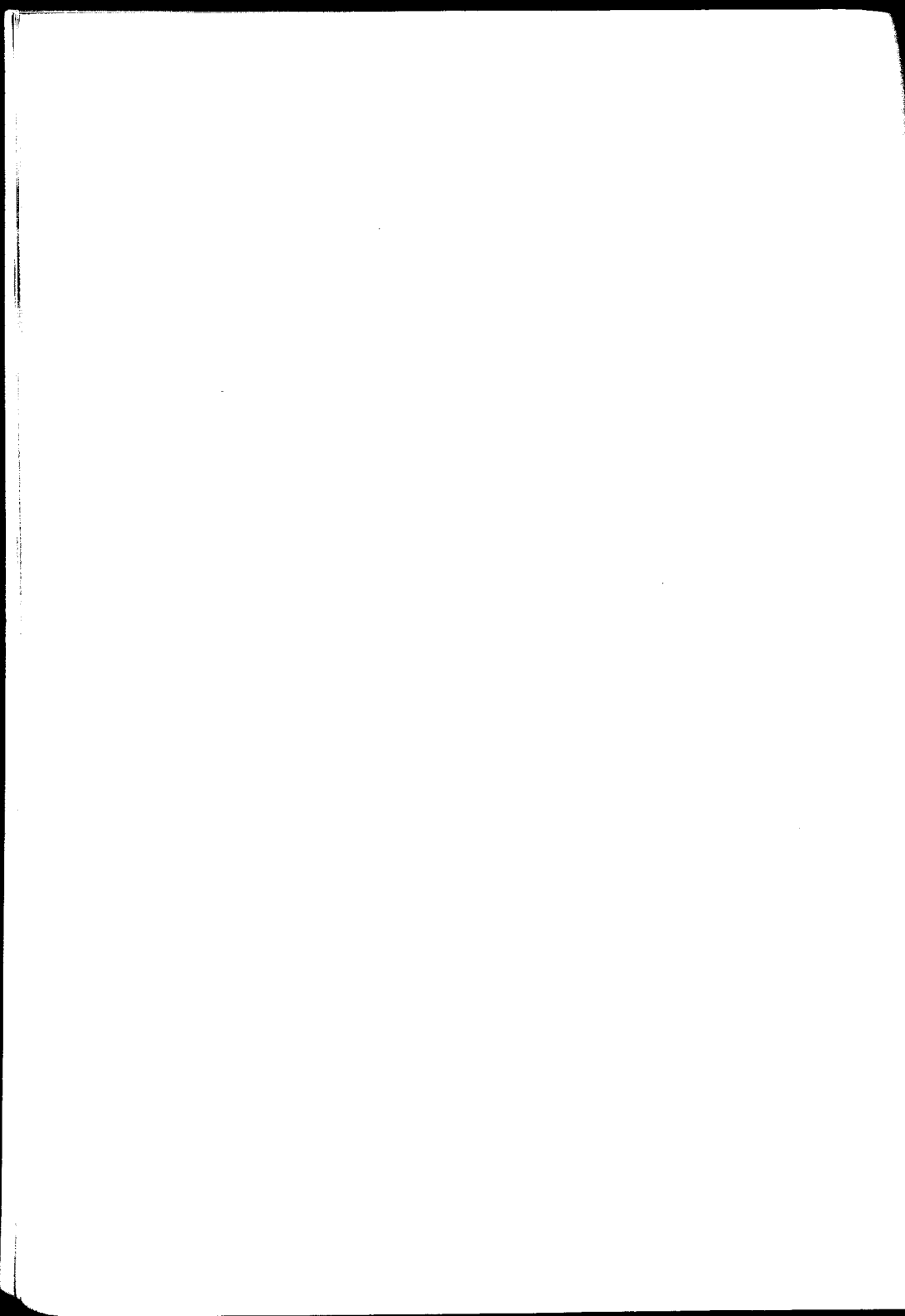


# ESCUELA DE MEDICINA

---

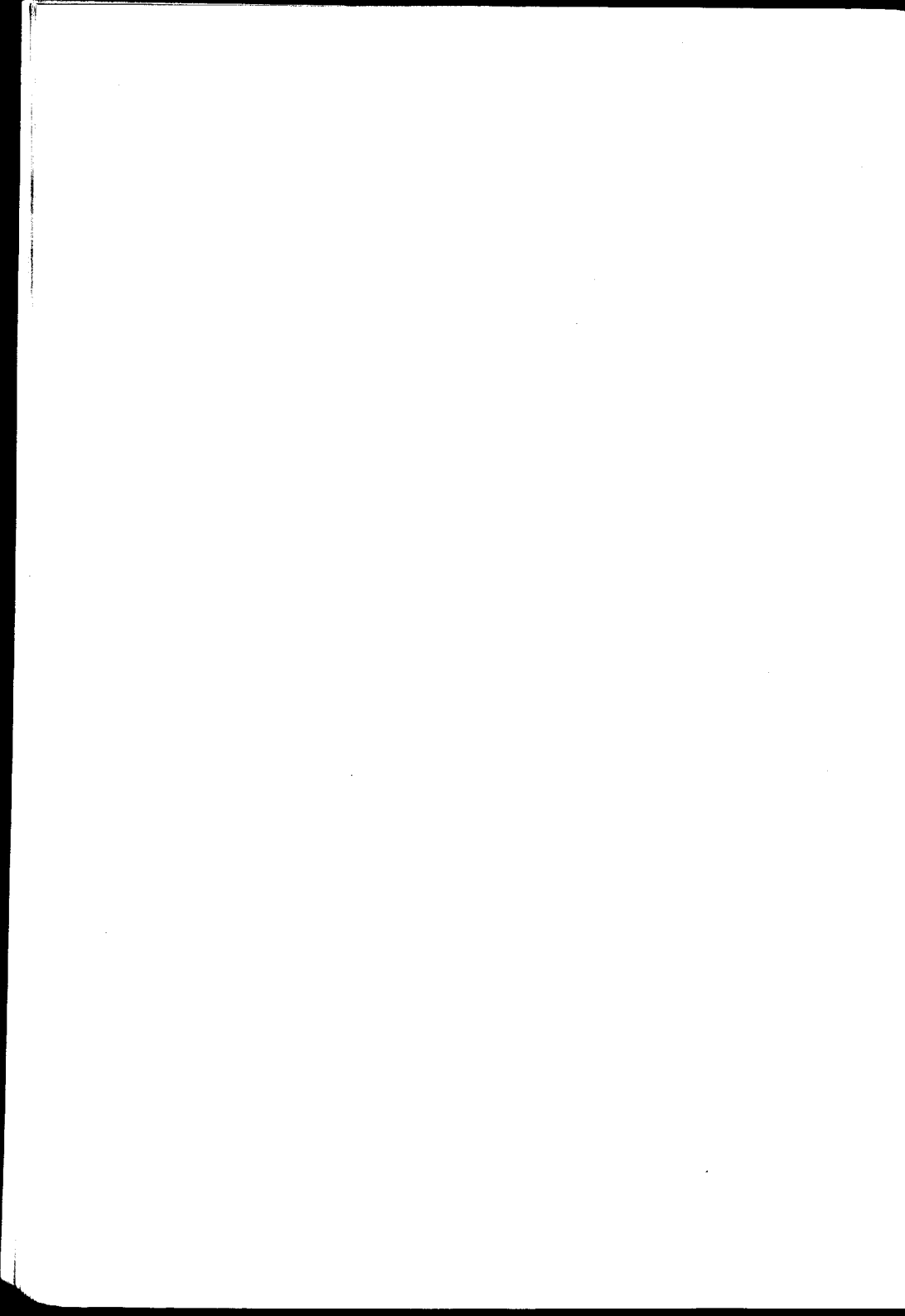
## PROFESORES EXTRAORDINARIOS

<b>Asignaturas</b>	<b>Catedráticos extraordinarios</b>
Zoología Médica.....	DR. DANIEL J. GREENWAY
Histología.....	» JULIO G. FERNANDEZ
Física Médica.....	» JUAN JOSÉ GALIANO
Bacteriología.....	» JUAN CÁRLOS DELFINO
	» LEOPOLDO URTARTE
	» ALOIS BACHMANN
Anatomía Patológica.....	» JOSÉ BADÍA
Clínica Ginecológica.....	» JOSÉ F. MOLINARI
Clínica Médica.....	» PATRICIO FLEMING
Clínica Dermato-Sifilográfica.....	» MAXIMILIANO ABERASTURY
Clínica Génito-urinaria.....	» BERNARDINO MARAINI
Clínica Neurológica.....	» JOSÉ R. SEMPRUN
	» MARIANO ALURRALDE
Clínica Pediátrica.....	» ANTONIO F. PIÑERO
	» MANUEL A. SANTAS
Clínica Quirúrgica.....	» FRANCISCO LLOBET
	» MARCELINO HERRERA VEGAS
Patología interna.....	» RICARDO COLON
Clínica oto-rino-laringológica.....	» ELISEO V. SEGURA
Clínica Psiquiátrica.....	» BENJAMÍN T. SOLARI
	» JOSÉ T. BORDA



## ESCUELA DE MEDICINA

Asignaturas	Catedráticos sustitutos
Botánica médica .....	DR. RODOLFO ENRIQUEZ
Zoología médica.....	GUILLELMO SEEBER
Anatomía descriptiva.....	SANTO E. PAINOT
Fisiología general y humana.....	" EUGENIO A. GALLI
Bacteriología.....	" FRANK L. SCHLER
Química Biológica.....	" BENIGNO D'USSAY
Higiene médica.....	" ROBERTO RIVAROLA
Semeiología y ejercicios clínicos.....	" SALVADOR MAZZA
Anatomía patológica.....	" DEXAMEN GALABOT
Materia médica y Terapia.....	" FELIPE A. JUSTO
Medicina operatoria.....	" MANUEL V. CARBONELL
Patología externa.....	" CARLOS BONIFINO UDAONDO
Clinica dermato-sifilográfica.....	" ALFREDO VITON
" genito-urinaría.....	" JOAQUIN LLAMBIAS
" epidemiológica.....	" ANGEL H. BOFFO
" oftalmológica.....	" JOSÉ MORENO
" oto-rino-laringológica.....	" ENRIQUE PINOCCHIETTO
Patología interna.....	" CARLOS ROBERTSON
Clinica quirúrgica.....	" FRANCISCO P. CASTRO
" médica.....	" GASTELFORC LUGONES
" pediátrica.....	" NICOLAS V. GRITO
" ginecológica.....	" PEDRO L. BALBA
" obstétrica.....	" JOAQUIN NIN POSADAS
" neurológica.....	" FERNANDO B. TORRES
" legal.....	" FRANCISCO DESUÉPANO
	" ANTONINO MARCÓ DEL PONT
	" ENRIQUE B. DEMARIA (en ejercicio)
	" ADOLFO SOCIETI
	" JUAN DE LA CRUZ GORREA
	" MARTÍN CASTRO ESCALADA
	" PEDRO LABAQUEL
	" LEONIDAS JORGE FACIO
	" PABLO M. BARRARO
	" EDUARDO MARINÓ
	" JOSÉ ARCE
	" ARMANDO R. MAROTTA
	" LUIS A. TAMINI
	" MIGUEL SUSSINI
	" PEDRO CRUETTO
	" JOSÉ M. JORGE (EL)
	" OSCAR COPELLI
	" ADOLFO P. LANGHVAR
	" JUAN JOSÉ VITTON
	" PABLO J. MORSALINE
	" WATSON A. BULLRICH
	" IGNACIO IMAZ
	" PEDRO ESCUDERO
	" MARIANO R. CASTEN
	" PEDRO J. GARCÍA
	" JOSÉ DESUÉPANO
	" JUAN H. GOYENA
	" JUAN JACOBO SPANGENBERG
	" MAURITO ACUÑA
	" GENARO SOSTA
	" PEDRO DE ELIZALDE
	" FERNANDO SCHWABER
	" JEAN CARLOS SAVARDO
	" JAIME SALVADOR
	" TORIBIO PICCARDO
	" CARLOS R. CIBRO
	" OSVALDO L. BOTTARO
	" ALBERTO ENRIQUEZ
	" ALBERTO FELICITA RAMOS
	" FAUSTO J. BRONGÉ
	" JUAN R. GONZÁLEZ
	" JUAN C. RISSO DOMINGUEZ
	" JUAN A. GABRIÉLOU
	" ENRIQUE A. BOBRO
	" RAMÓN H. CHEAPOH
	" VICENTE DIETZ
	" JOAQUIN V. GNECCO
	" JAVIER B. ANDAM
	" ANTONIO FIDESTÁ



## ESCUELA DE PARTERAS

---

### **Asignaturas**

### **Catedráticos titulares**

#### *Primer año:*

Anatomía, Fisiología, etc..... DR. J. C. LLAMES MASSINI

#### *Segundo año:*

Parto fisiológico..... DR. MIGUEL Z. O'FARRELL

#### *Tercer año:*

Clínica obstétrica..... DR. FANOR VELARDE

Puericultura..... > UBALDO FERNANDEZ



## 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 ..	» OSCAR MALOCK
Física farmacéutica.....	DR. TOMÁS J. RUMI
Química orgánica .....	{ SR. PEDRO J. MÉSIGOS
	{ » LUIS ZUGLIAMELLI
Química analítica.....	DR. JUAN A. SÁNCHEZ
Química inorgánica.....	{ » ANGEL SABATINI
	{ » EMILIO M. FLORES



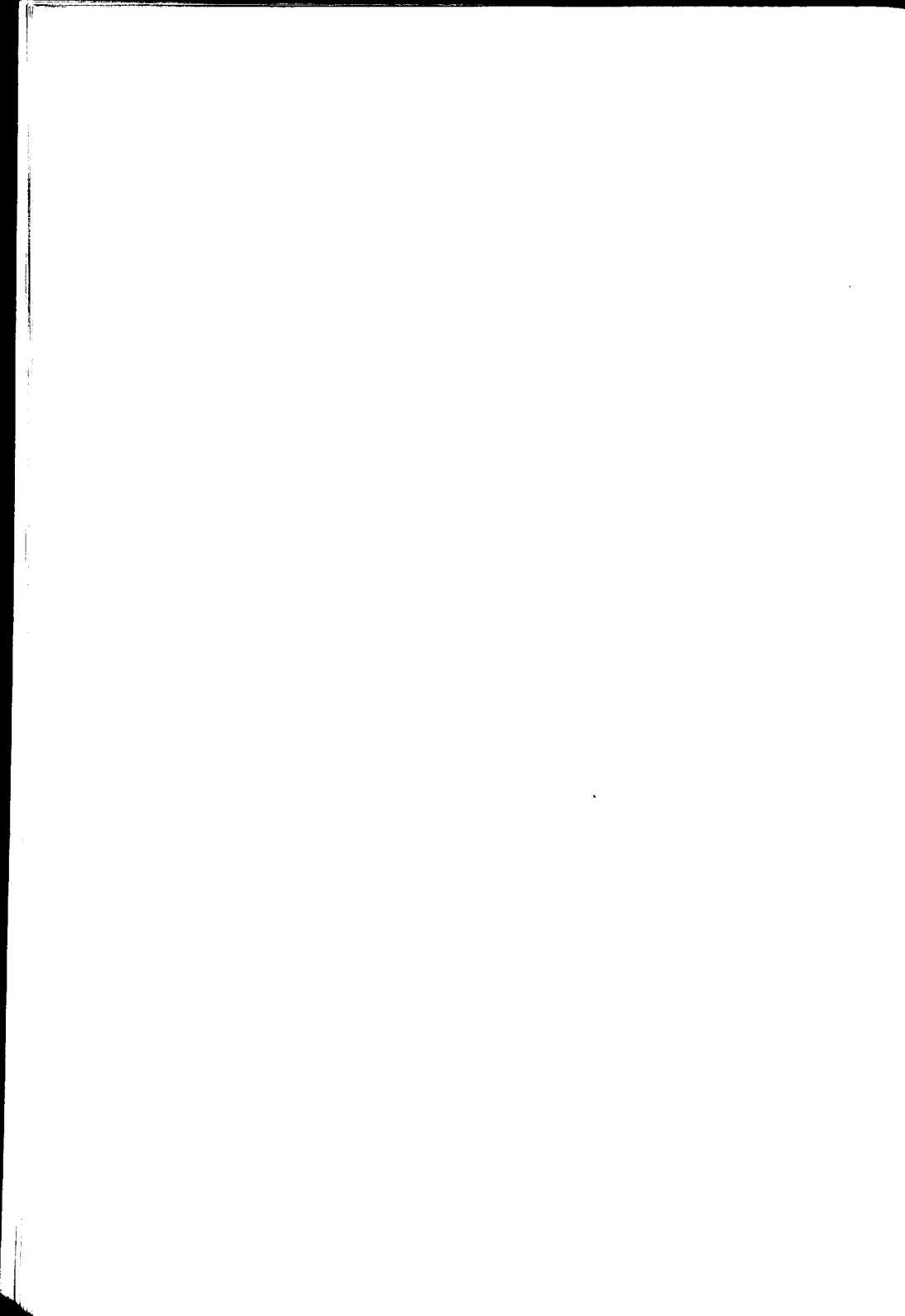
## ESCUELA DE ODONTOLOGIA

---

<b>Asignaturas</b>	<b>Catedráticos titulares</b>
1 <sup>er</sup> año .....	DR. RODOLFO ERAUZQUIN
2 <sup>o</sup> año.....	> LEON PEREYRA
3 <sup>er</sup> año.....	> N. ETCHEPAREBORDA
Protesis Dental.....	SR. ANTONIO J. GUARDO

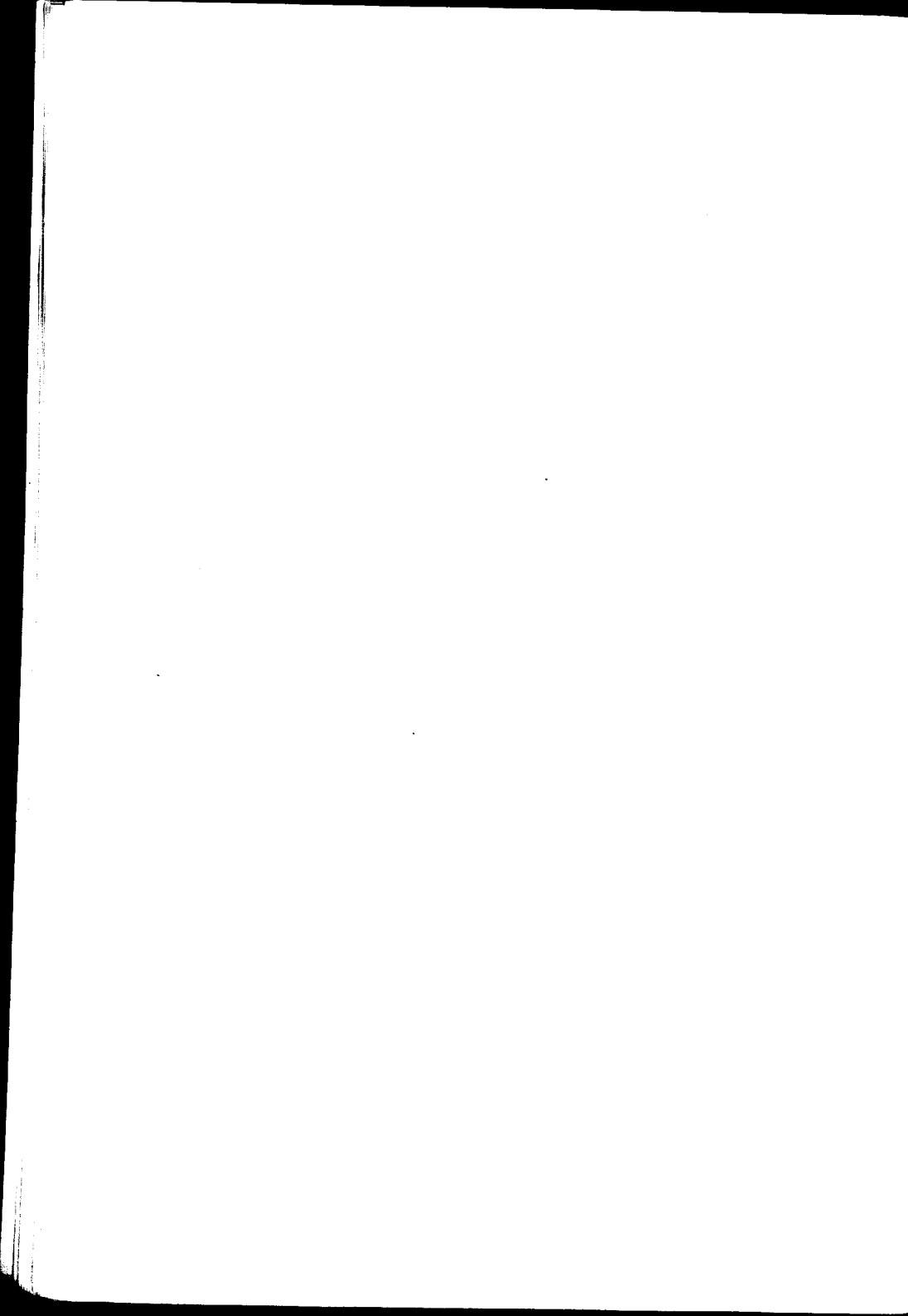
### **Catedráticos sustitutos**

DR. ALEJANDRO CABANNE  
> TOMÁS S. VARELA (2.º año)  
SR. JUAN M. CARREA (Prótesis)



PADRINO DE TESIS

PROFESOR BERNARDO A. HOUSSAY



A MIS PADRES

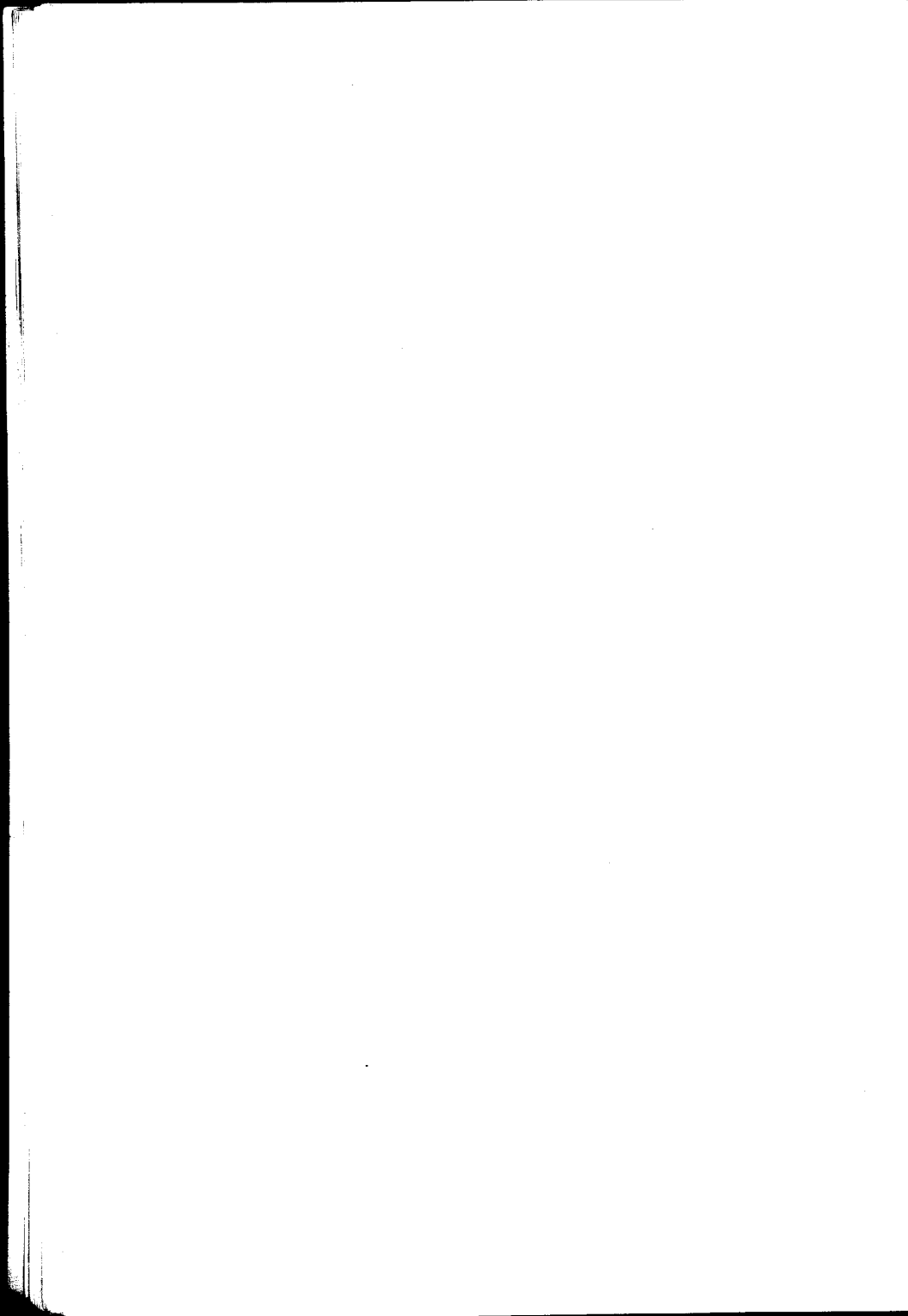


A MI HERMANA ROSA ESTHER

A MI HERMANO JULIO



A MIS PARIENTES Y AMIGOS



SEÑORES ACADÉMICOS:

SEÑORES CONSEJEROS:

SEÑORES PROFESORES:

Presento á vuestra consideración, el presente trabajo titulado «Contribución al estudio de la coagulación sanguínea».

Este tema me fué sugerido por el Prof. Dr. B. Houssay, quien me honra al acompañarme como padrino de tesis.

La parte experimental fué hecha bajo la dirección del Dr. A. Sordelli, y con el permiso del profesor Krauss, en el Instituto Bacteriológico del Departamento Nacional de Higiene.

Agradezco al Dr. R. Borzone y al Sr. M. Gardé su desinteresada ayuda.

En el pasaje como alumno de la Facultad y como practicante de varios hospitales, sería largo enumerar los nombres de los médicos que han contribuido á formar mi criterio clínico; para ellos mi sincero reconocimiento.

Debo hacer públicos mis sentimientos de admiración y respeto á los Dres. S. Rañó y F. Canevari, de quienes he recibido sabios consejos.

Por último, un recuerdo á los modestos empleados que han puesto su trabajo al servicio de mi tesis.

---

## HISTORIA

Desde muy antiguo conocíase la coagulación de la sangre y hasta la teoría humoral encontraba que la fibrina erasis jugaba un rol importantísimo en los diversos estados patológicos.

Morawitz, divide las teorías que se han sucedido hasta mediados del siglo pasado en dos grupos, unas químicas y otras físicas, que suponen que existen en la sangre acciones de substancias entre sí, con formación de un algo nuevo difícilmente disoluble: la *fibrina*.

Hipócrates y Aristóteles creían que la sangre coagulaba en cuanto faltaba suficiente calor y humedad. Así, Hipócrates explicaba un simple escalofrío porque la pituita y la bilis, más frías que la sangre, se mezclaban á ella y se coagulaba de una manera incompleta, y que luego la sangre recuperaba su calor y aun se excedía; la redisolución del coágulo se hacía, y el sujeto tenía fiebre.

Entre los libros de la Edad Media encontramos en

El Abib que la acción del calor y de la humedad hacían liquidar el coágulo y ésta se hacía mucho más rápidamente en presencia de sustancias orgánicas.

Schroeder Van der Kolk, J. Bohn, T. Hoffmann, Luwig y en 1760 Butt, creían en la influencia del frío, y este último autor pensaba que la sangre era una solución sobresaturada de fibrina y con el enfriamiento se cristalizaba.

William y Hewson demuestran que la sangre puede congelarse, después coagular. Schroeder Van der Kolk, J. N. Pechlin, Boerhaave, Van Swieten y Albrecht Von Haller, aceptaban que la cesación del movimiento natural de la sangre permitía que la fuerza de atracción de los corpúsculos contenidos en ellas se unieran y producir así la coagulación de la sangre.

John Hunter demuestra que la sangre puede estancarse durante mucho tiempo y aun batirse sin que la coagulación se acelere.

Tampoco el contacto con el aire era causa que pudiera influir en este fenómeno, y bastaba á Hunter basarse sobre la fluidez de la sangre menstrual, etc.

Mercurialis, Hewson y Helvetius explicaban la falta de coagulación de la sangre en los vasos por la acción de la fuerza vital.

Las teorías del segundo grupo son también antiguas y ya Galeno decía que la coagulación de la sangre era una etapa que como final llegaba á la descomposición. Home, Prevost y Dumas creían en que dado las tendencias de

los núcleos á unirse entre ellos en el cuerpo del sujeto siendo la cápsula que envolvía al núcleo vivo, impedían su aglutinación, pero una vez que esta cápsula moría las substancias contenidas en ellas pasaban al plasma y de aquí la aglutinación rápida de los elementos nucleares.

Müller recogía sangre de rana sobre una solución concentrada de azúcar, separados los elementos celulares por filtración en el líquido podía obtener el coágulo. Estas observaciones las oponía Müller á los conceptos de Home.

Virchow sostenía que la fibrina líquida no puede pre-existir como tal en la sangre ni en los exudados y si sólo una prefibrina ó fibrinógeno.

La transformación del fibrinógeno en fibrina concreta sólo podía hacerse por la intervención del oxígeno. Buchanan trabajando sobre el hidrocele llega á las conclusiones para transformar la fibrina líquida en sólida es indispensable la acción de otra substancia en el suero sanguíneo, pero luego sus experiencias lo llevaron á dar mayor importancia á los corpúsculos sanguíneos.

Brucke, conservando sangre de corazón de tortuga, demostró que ésta se conserva incoagulable por la acción de las paredes. Brucke explicaba la coagulación de la sangre en que parte de las albúminas del plasma sufrían probablemente la acción de un ácido que la hacía coagular.

Denis trató de aislar el fibrinógeno entrevisto por Virchow, por soluciones concentradas de cloruro de sodio.

El plasma que obtenía lo llamó suero fibrina y después la denominó plasmina y coagulaba espontáneamente en poco tiempo.

Hasta el año 1860, sólo se tenía demostrado dos hechos fundamentales: 1.º, la acción de la pared del vaso, y 2.º la presencia del fibrinógeno en los exudados.

Corresponde á A. Schmidt el haber tomado la cuestión y aunque sus observaciones no han sido completamente aceptadas, ha formado, sin embargo, el armazón sobre la que se agregan las teorías más modernas. Después de Schmidt debe citarse á Hammarsten quien pudo aislar perfectamente el fibrinógeno, reconoce la acción del fermento del suero sanguíneo y acepta con Arthus y Pagés la acción de las sales de calcio.

El tercer gran período es constituido por la demostración que para la formación de trombina era necesaria la acción de las sales de calcio. Conviene mencionar en este período á Arthus, Pagés, Pekelharing, Lilenfeld al mismo Hammarsten, Cramer y Schäfer. Entre los más modernos citaremos á Delezenne, Fuld, Loeb, Wooldridge, Morawitz, Nolf, Bordet y sigue la lista innumerable de autores que se han dedicado al estudio de tan interesante cuestión y que aun ahora, mucho de los fenómenos íntimos constituyen problemas muy arduos de biología.

---

## ESTUDIO FISICO DE LA COAGULACIÓN DE LA SANGRE

La temperatura es un factor importantísimo que modifica el tiempo de la coagulación de la sangre. La temperatura á 0° impide la coagulación. Si se recoge la sangre especialmente de la vena de caballo y se mantiene á 0° ésta queda incoagulable y es suficiente calentarlo para que el coágulo no tarde en producirse. A menos de dos grados los glóbulos rojos se alteran, á temperaturas más bajas aun la sangre se congela, pero es suficiente aumentar su temperatura para que se coagule.

Si recogemos la sangre á temperatura ordinaria y si se espera hasta iniciarse el coágulo y luego se enfría rápidamente, la coagulación no se puede detener y el coágulo se produce á pesar de la baja temperatura.

Si eliminamos los elementos figurados, filtrando la sangre á baja temperatura, el plasma recogido sufre las mismas transformaciones que la sangre completa; es decir. que coagula en cuanto la temperatura aumenta.

Los mismos fenómenos se producen con las serosidades llamadas espontáneamente coagulables como la linfa, los exudados, etc. Se conserva igualmente la sangre apenas recogida rápidamente en un recipiente á 0°. Aumentando la temperatura Nolf, por ejemplo, da las siguientes cifras: á 6°3 tarda 45 minutos; á 17°9 coagula en 10 minutos; á 28°, 4 minutos, y á 39°8, 2 minutos 45 segundos.

Hayem coloca la temperatura más favorable para que se coagule la sangre de los animales superiores entre más 40° y más 50°. Llevada esta sangre rápidamente á 56° ó 57°, las albúminas del plasma precipitan, y la sangre en esta forma se hace incoagulable. Las mismas propiedades se observan en los líquidos espontáneamente coagulables.

El exudado del pericardio del caballo ó del hidrocele humano, coagula si se le agrega cierta cantidad de suero sanguíneo dejan de hacerlo en cuanto se calienta previamente á 57°.

Temperaturas superiores de 59° producen la coagulación de todas las materias albuminóideas.

Agregando á la sangre hielo ó pequeña cantidad de agua helada, la sangre tarda en coagularse, probablemente debido á la acción del frío que impide la acción destructiva del agua pura sobre los elementos celulares. El agua en pequeñas cantidades favorece la coagulación de la sangre; en cambio las fuertes concentraciones salinas (Denis, Schmidt, Gautier) impiden la coagulación, y

es suficiente extraer el exceso de sales, ya sea por dilución ó por dialisis para que la sangre coagule por su cuenta. La acción de los cuerpos extraños como los cuerpos inertes ó de mucha superficie hace que la sangre coagule muy rápidamente. Cuando la sangre se coloca en un tubo de ensayo y se deja en reposo, la coagulación empieza por las paredes del vaso, luego la superficie libre y por último el centro. Freund y Barrier descubren que, recogiendo la sangre en un recipiente recubierto con substancias grasas, la sangre tarda, á la temperatura del laboratorio, hasta una hora y media en coagularse. Bordet y Gengou usan vasos parafinados, pero esta substancia, según Nolf, es un cuerpo extraño que no detiene por sí solo la coagulación. Nolf toma como recipiente la vena de un animal, y aun cuando por centrifugación hace depositar en el fondo todos los elementos, sin embargo, el plasma recogido en un tubo de ensayo, coagula espontáneamente aunque de una manera más lenta.

Los gases no parecen tener acción ninguna en la coagulación de la sangre. Estando líquida la sangre en un tubo de ensayo, el nivel de contacto con el aire es plano y se hace cóncavo cuando se ha producido la coagulación. Poco tiempo después de coagularse, se inicia un nuevo proceso consistente en la disminución del volumen del coágulo, dejando escapar el suero, á esto se llama retracción del coágulo.

O'Claude ha querido medir y hacer gráfica la retracción del coágulo; para esto toma una columna de sangre

de 40 mm. de alto y sobre un fondo de papel cuadricula-  
do de 4 mm. de lado por cuadrito; va midiendo cada 2 mi-  
nutos cómo baja la columna, y va marcándolo sobre el  
papel.

---

## ESTUDIO MORFOLÓGICO DE LA COAGULACIÓN DE LA SANGRE

Alejandro Schmidt y sus discípulos hacen jugar á los leucocitos un gran rol en la génesis del fibrin-fermento. Filtrada la sangre de un caballo, se ve que el plasma tarda más tiempo en coagularse que si en ella estuvieran contenidos los elementos celulares. Preparando una suspensión de leucocitos y agregándolos al plasma, el tiempo de coagulación se acorta. Dejando reposar á la sangre del caballo, los glóbulos rojos, como se sabe, se depositan en el fondo, formando una capa superior los leucocitos, y se observa que de esta capa comienza el plasma á coagularse. Numerando la cantidad de leucocitos antes y después de efectuarse el coágulo, se nota que el número de éstos disminuye considerablemente. Esta disminución no puede ser explicada por el hecho que la fibrina engloba estos elementos celulares; para Krüger, en la fibrina sólo se encuentran últimos restos de glóbulos blancos. Por otro lado, los trabajos de Heyl, Groth, demuestran

que la disminución del número de leucocitos en la sangre trae consigo la disminución del tiempo de coagulación, pero Bojanus, Hoffmann, Samson y Himmelstjerna observan que el tiempo que tarda la sangre en coagularse, es el mismo á pesar que sigue disminuyendo el número de leucocitos.

De aquí deducen algunos, que el organismo emite substancias que no permitan actuar al fibrin-fermento que se halla en exceso en la sangre circulante. Estas hipótesis parecen comprobadas por Birk, Yakowicki y Sachs-sendahl, tratando de demostrar que en la sangre, no sólo se destruye el fibrin-fermento formado á expensas de los leucocitos, sino también la introducida experimentalmente por vía para-enteral. Puesto los animales de experiencia en condiciones de inferioridad de defensa, aparece en la sangre trombina y mueren por coagulación intravascular. Para Löwit, el exceso de trombina formado en la sangre por la inyección de pepsina y piocianina, y que no produce la coagulación sanguínea en vivo, es debido á que las substancias antes indicadas se unen á las sales de calcio, impidiendo, por lo tanto, la intervención del calcio en la producción del coágulo.

Zabotinsky observaba en los vasos mesentéricos del conejo el fenómeno de la coagulación sanguínea, previa inyección en la yugular externa de este animal 10 á 20 c. c. de una solución al 10 % de hemialbumosa, y la coagulación se producía más rápidamente cuanto menos tiempo después de hemialbumosa se observaba,

como también después de las comidas del animal, es decir, en aquellos momentos en que el aflujo de glóbulos blancos era mayor. Salvioli, Rüchel, Spitta suponen que los leucocitos no se destruyen por la coagulación de la sangre. Stassano y Billa dicen, basándose en exámenes de la sangre de vaca hechos antes y después de inyección de substancias determinadas, que el coágulo se produce tanto más rápidamente cuanto más glóbulos blancos se encontraba, y vió así aumentar los leucocitos de 12.000 á 20.750, paralelo siempre á su capacidad de coagularse.

Según Heyl, la pérdida de leucocitos que se observa después de la defibrinación de la sangre de caballo alcanza hasta el 71  $\%$ , y según Löwit se pierde hasta el 80.5  $\%$  del número total de leucocitos; para Harmsen, en la sangre humana sólo existe una pérdida de 48.1  $\%$ , y según Berg un aumento de 27  $\%$  y 63  $\%$ , y Krüger hace oscilar el aumento de leucocitos entre 31.9  $\%$  y 50.5  $\%$ . En el conejo decrecen término medio 50  $\%$  á 51  $\%$ . Stassano cree que el fibrin-fermento es exclusivamente formado por los leucocitos. Algunos autores, como Mantegazza, piensan que no es la acción propia del elemento celular, sino de una substancia que se desprende al destruirse este elemento. Schmit agregaba á los exudados, espontáneamente no coagulables y que no contuvieran leucocitos, cierta cantidad de glóbulos blancos y la coagulación del exudado se producía.

Los exudados que contienen un fibrinógeno precipitable por el cloruro de sodio y no precipitable por el calor

á más de 56 grados, quedan incoagulables á pesar de agregarle fibrin-fermento. Hayem opone, que estudiando el exudado recogido del pericardio, y que al examen microscópico mostraba una buena cantidad de glóbulos blancos, sin embargo, era incoagulable á pesar de agregar una emulsión de leucocitos, y sólo coagulaba agregando suero sanguíneo. Hayem dice que la linfa es la serosidad que no conteniendo hematoblasto, coagula por la acción de los leucocitos. La linfa tiene todos los generadores de la coagulación, aun en fibrinógeno precipitable á más de 56°, y no coagula dentro de los vasos; M. Barrier y Hayem han tratado de filtrar la linfa y eliminar así la presencia de los glóbulos blancos, pero á pesar de todo, el plasma así obtenido contiene leucocitos y la coagulación se produce. Fano demuestra que la inyección de peptona haciendo incoagulable la sangre de perro, produce igual acción respecto á la linfa. Hayem tiene forzosamente que admitir, que los glóbulos blancos no actúan por su presencia, lo hacen por medio de substancias que se desprenden de su cuerpo, y esto sólo fuera de los vasos linfáticos. Los hechos que se oponen á pensar de que los leucocitos son los portadores de substancias coagulantes, es que si se deja la vena yugular del caballo de manera que se depositen todos los elementos celulares, punzando la parte más superior se obtiene un plasma que no conteniendo ningún elemento figurado, sin embargo la coagulación se produce. Hayem y Bizzozero no han observado la deformidad bajo microscopio de los glóbulos

blancos y su intervención activa en la formación del coágulo. Si se filtran á través de papel Berzelius se obtiene un líquido en que sólo se encuentra uno que otro glóbulo rojo; puesto este líquido á temperatura de laboratorio durante una ó dos horas, aparece una red fibrinosa, y examinando la fibrina en el microscopio, no se observa ningún glóbulo blanco, Los leucocitos retenidos sobre el filtro conservan sus propiedades normales.

Bizzozero examinando los capilares del cobayo, la velocidad de elementos estaban disminuídos, observando que se pueden contar 300 ó 500 glóbulos rojos por un leucocito, y cuando la coagulación intravascular se produce cuenta 400 á 500 glóbulos rojos y ningún leucocito.

El rol de los glóbulos rojos parece más claro que la de los leucocitos; para Wooldridge no intervienen en la formación de ningún elemento. Hayem, en cambio, hace notar que los hematíes se hacen menos adhesivos, y la defibrinación de la sangre por el batido disminuye la vitalidad de estos elementos que no tardan en destruirse; sin embargo, conservan sus formas recogida y dejada coagular en ciertas condiciones. A. Gautier cree que los glóbulos rojos en la coagulación se produce una exosmosis de paraglobulinas. Hayem dice que, tratando de cierto modo á la sangre se obtiene de los hematíes el desprendimiento de algunos corpúsculos que llama corpúsculos de exudación, y cree que estos corpúsculos tienen algún rol en la coagulación, porque en la sangre fibrinada no se observa

la presencia de estos elementos. Tratando á la sangre fresca por una solución poco coloreada de azul de metileno, y teniendo cuidado que penetren por capilaridad, se observa la formación de grupos más ó menos voluminosos, de donde parten finos hilos y parecen constituidos por una variedad de fibrinógeno (Hayem).

Wooldridge cree que los pequeños discos de que está formado el fibrinógeno A. de este autor no son más que hematoblastos; pero Hayem observa que los corpúsculos de exudación son muy parecidos. Se observa que los glóbulos rojos nucleados de los ovíparos no se encuentran estos corpúsculos de exudación, en cambio en la sangre peptonizada de los pájaros existe esta alteración de los hematíes, lo que hace decir á Hayem, que la sangre mantenida líquida por inyección de peptona no detiene la formación de corpúsculos de exudación fuera de los vasos.

Conheim encuentra que en los trombus blancos la presencia de hematíes es la excepción.

Trabajando con plasma oxalariado que conserva bastante bien las formas de los elementos celulares, y centrifugando primero despacio para obtener así en el fondo del tubo los hematíes y una gran cantidad de leucocitos, se observa que el plasma recogido es coagulable apenas se agrega la suficiente cantidad de sales de calcio.

La ausencia de glóbulos blancos en la linfa y en los exudados espontáneamente coagulables y en los líquidos incoagulables, pero que se coagulan al agregarse trombina; hablan poco en favor de la intervención directa de

los hematíes en la coagulación. El rol que hacen jugar los autores á los hematíes son en general muy pobres, unos la niegan por completo y otros le dan una participación nínía en la coagulación sanguínea.

El descubrimiento del tercer elemento de la sangre data desde muy antiguo y ha sido denominado: los globulinos de Domé, el bioplasma de Beale, los corpúsculos de Zimmermann, y más modernamente en hematoblastos por Hayem, plaquetas por Bizzozero, trombocitos por Dekhugzen y Giglio-Tos, y últimamente globulinos por Aynaud. La forma que fijó Hayem á sus hematoblastos era bicóncava, un poco alargada; mientras que para Aynaud, quien recoge la sangre en mejores condiciones, es fusiforme, muy pálidos, luego al degenerar se hacen redondeadas, y por último se deforman completamente. Es la rapidez de las alteraciones de los globulinos que hizo y hace pensar el rol fundamental que juegan estos elementos en la coagulación sanguínea. Bizzozero liga un trozo de yugular, y mientras que la pared vascular es sana, la coagulación no se produce y los globulinos conservan su forma. Si se obtiene el plasma por punción de esa vena, la sangre no tarda en coagularse, mientras si se agrega la solución sodio-metálica de Bizzozero, la coagulación no se produce y los globulinos conservan su forma. Una vez que se produce la coagulación en la vena, los glóbulos blancos como los rojos mantienen su forma primitiva. Bizzozero hace caer de la oreja de un perro á un vidrio de reloj 20 á 30 gotas de sangre, y con un hilo de vidrio

lo bate por uno ó dos minutos, y así obtiene una gran cantidad de fibrina, que después de lavada en suero fisiológico es examinada en una solución sodio-metilica; al microscopio puede verse que el hilo de vidrio está cubierto por los globulinos y gran cantidad de fibrina; pero si se bate sólo 50 segundos y se lava rápidamente, se puede ver el hilo recubierto por globulinos y sin ningún filamento de fibrina. Batiéndose la sangre durante mayor tiempo se observa, según Bizzozero, á un gran aumento, dos capas, una la más interna, tomando como eje el hilo de vidrio, formada por los globulinos y uno que otro leucocito; la capa más externa está formada por los filamentos de fibrina que engloban algunos glóbulos blancos y rojos.

En la alteración de los globulinos se observa la formación de vacuolas, la periferia que está en contacto con el líquido es perfectamente claro. Bizzozero produce al mismo fenómeno bajo el microscopio, toma para eso un hilo y haciendo pasar sangre, luego una corriente de suero fisiológico, obtiene primero una primera capa de globulinos adheridos al hilo y por último la formación de fibrina; queriendo ver en esto el autor el mismo fenómeno que se verifica al formarse un trombus blanco intravasal. Hayen estudiando las condiciones que favorecen ó dificultan la coagulación de la sangre hace notar que estos mismos factores actúan sobre los hematoblastos; destruyendo cuando favorecen la coagulación y conservando sus formas cuando impide esta misma coagulación.

Es á Bordet y Delange á quienes se debe en estos últimos tiempos un estudio más acabado de los globulinos.

Estos autores consiguen obtener por centrifugación sangre oxalatada, una gran cantidad de globulinos sin mezcla de otros elementos morfológicos y concluye que en las plaquetas existe una sustancia que llaman citozima, termo y cocto estable capaz de formar trombina en presencia de un elemento termolábil, que se destruye á 55°, se halla en el suero y llaman serozima y de las sales de calcio. Si la sangre de mamíferos no tuvieran plaquetas sería incoagulable como de la de los pájaros (Bordet, Delange). Las plaquetas contienen más citozima que los glóbulos blancos y una emulsión de estos globulinos es capaz de coagular á un exudado que ha quedado incoagulable á pesar de su riqueza en leucocitos.

El plasma sin plaquetas se coagula por su cuenta, pero lentamente como lo demuestra las experiencias de Nolf.

Cajal hace notar que tratando las plaquetas de los mamíferos por las sales de plata se pone evidencia la presencia del fosfato de calcio, por la formación del fosfato de plata reductible por el ácido pirogálico.

L. de Le Sourd y Ph Pagniez agregan á las plaquetas una propiedad que se destruye á 58° y es modificado ya á 45°, consiste en hacer retraer el coágulo. El mayor número de plaquetas retrae mayormente el coágulo formado. Se puede obtener por inyección de plaquetas un suero

citotóxico de plaquetas y este suero tiene la propiedad de suprimir la retracción del coágulo sanguíneo.

Siguiendo la técnica señalada por Ranvier, es decir, hacer caer una gota de sangre en un porta-objeto, colocado en la cámara húmeda durante 25 horas puede observarse bajo el microscopio los glóbulos rojos formando islotes que se reúnen entre sí. Haciendo pasar por el preparado una corriente de agua puede verse la red de fibrina; presenta esta red unas granulaciones de una tres micrones y que después se han identificado á las plaquetas destruidas. El iodo y el sulfato de rosanilina colorean esta red.

Stübel estudia la coagulación de la sangre del caballo, hombre y conejo al ultra microscopio, siguiendo el procedimiento de Bürker. Sobre un blok de parafina, en la que existe una excavación se deja caer sobre ella unas gotas de sangre, una vez depositados los elementos celulares, se recoge el plasma y coloca en un objeto muy limpio, rodeado el preparado con suero. Usa el paraboloide de Siedertopf. Entre la luz y el preparado existe un recipiente de 5 centímetros de ancho lleno de agua. Es suficiente un aumento de 1000 á 1500 diámetros. Se observa que una vez aglutinadas las plaquetas de la sangre, formarse agujas de fibrina en su mayoría adherido al cúmulo de plaquetas sanguíneas. Cuando el plasma es perfectamente límpido, las agujas parecen nacer de líquido claro y de varios lugares al mismo tiempo. Las agujas de fibrina aumentan en cantidad y grosor hasta llenar por completo el preparado, no observándose otra alteración. Cesana obtiene

sangre de perro hecho incoagulable previamente por inyección de 0.6 grs. por kilo de animal, de peptona Witte; cuando se desea que coagule bajo el ultra microscopio agrega suero normal. Observa este autor una luminosidad difusa blanco azulada, como el de una nebulosa, en ella existen raras estrellas luminosas animadas de un movimiento de traslación. En el plasma de perro peptonizado, existe mayor luminosidad. Para Mayer no existe tal luminosidad sino al contrario un fondo obscuro. Cesana observa la presencia de gránulos anterior á la coagulación; Mayer posterior á ellas. Cuando se inicie la coagulación el fondo de luminosidad aumenta así como las estrellas y los gránulos se aveciuan á guisa de rosario formando una línea continua única ininterrumpida; más tarde se entrecruzan formando red y el fondo aparece obscuro. Stübel estudió la formación de la fibrina en aves y anfibios. En las aves trabajaba sobre el plasma libre de elementos, en los anfibios sobre la sangre. La coagulación del plasma de ave la obtenía agregando un extracto de músculo fresco en suero fisiológico. En las ranas no tiene mayor influencia este agregado y se deja coagular espon-táneamente. Stübel no observa en las ranas las agujas descritas en los mamíferos y solo existe una red de hilos muy finos. El centro de esta red es generalmente un pequeño cuerpo extraño ó una aspereza del vidrio. La red no se adhiere, ni á los glóbulos blancos ni rojos ni trombocitos de la sangre de rana. En las aves se forman tanto la red como las agujas de fibrina y parece no tener rela-

ción con los trombocitos que nadan por encima de la red ó de las agujas. Si se hace actuar el extracto de músculo y cloruro de calcio en una solución pura de fibrinógeno, se observa agujas típicas que parecen nacer como si fueren un proceso de cristalización.

---

## ESTUDIO QUÍMICO DE LA COAGULACIÓN SANGUÍNEA

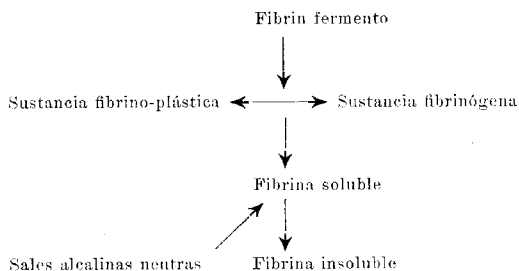
Schmidt en 1860, observó que á los líquidos orgánicos llamados serosos, es decir aquellos que no eran espontáneamente coagulables, como el líquido del hidrocele humano; formaban fibrina apenas se agregaba cierta cantidad de suero normal y llamó á la albúmina contenida en el transudado sustancias fibrinógenas y á la que se encuentra en el suero substancia fibrinoplástica. Tratando el suero por el anhídrido carbónico el precipitado albuminoso era el que contenía la substancia fibrinoplástica. Primero, Schmidt, pensó que la substancia fibrinoplástica era un fermento porque vió que después de formar el cóagulo desaparecía la substancia fibrinógena y quedaba algo de substancia fibrinoplástica capaz de coagular una nueva cantidad de sustancias fibrinógenas; pero al poco tiempo abandonó esta concepción porque la substancia fibrinoplástica que obtenía después de una segunda ó una tercer coagulación era de poder mucho

menor que la primera substancia fibrinoplástica empleada y entonces aceptó la teoría de la combinación de la substancia fibrinógena con la fibrinoplástica y no la eliminación de una por la otra. Considera por lo tanto la fibrina, no como substancia preexistente, y los transudados quedan líquidos porque les falta la substancia fibrinógena. Dedujo también Schmidt, dado, que los líquidos pobres en células son los que tienen menos tendencia á coagularse concluye atribuyendo á las células un rol importante de portadores ó generadores de una substancia que favorece el coágulo. Esta primer teoría de Schmidt, puede representarse por esta ecuación:

Substancias fibrinoplásticas + substancia fibrinógena = fibrina

Schmidt, para explicar la causa de la fluidez sanguínea habla sólo de acciones probables de substancias alcalinas; de circunstancias especiales en que podrían encontrarse las dos substancias generadoras de la fibrina. Brücke, dirigió sus críticas á esta teoría de Schmidt, haciendo ver que la substancia albuminosa precipitada por el anhídrido carbónico no tenía mayor poder que el suero completo. A esta albúmina precipitada llamó paraglobulina y emitió la idea que probablemente la paraglobulina siendo fibrinoplástica negativa, actuaría como fermento agregado á esta albúmina. Luego Schmidt, descubrió una tercer substancia, pero con carácter de fermento, capaz de iniciar ó acelerar el coágulo en deter-

minados líquidos. No consiguió obtener una substancia fibrinoplástica libre de fermento, pero sí, un fermento libre de globulinas. Basaba en la acción fermentativa de la substancia hallada, de que era capaz de coagular varias veces cantidades bastante grandes de substancias fibrinoplásticas y fibrinógenas. Pierde su acción de fermento bajo la influencia de los ácidos y las temperaturas de 100 grados; siendo su óptima de acción á 37°. A esta altura de sus investigaciones Schmidt, emite la opinión de que la fibrina se forma por la acción del fibrin-fermento sobre dos albúminas y en presencia de las sales alcalinas neutras. Se puede representar este concepto por el siguiente esquema:



La causa de que la sangre circulante es líquida, se debe á la falta de fibrin-fermento y esto lo demuestra recogiendo la sangre directamente sobre alcohol. Es sólo cuando los elementos celulares decaen, especialmente los leucocitos, se produce entonces el fibrin-fermento. Los glóbulos blancos también producirían substancias fibrino-

plásticas que uniéndose probablemente á la substancia fibrinógena produce una substancia intermediaria: la fibrina soluble y sólo ésta en presencia de sales alcalinas neutras precipita al estado de fibrina insoluble. El punto débil de la teoría de Schmidt se encontraba en las substancias fibrinoplásticas, pensó hacer actuar solamente el fibrin-fermento, y que es necesaria la substancia fibrinoplástica libre de fermento, agregando, por ejemplo, clara de huevo obtenía así la coagulación en líquidos incoagulables por otro modo. Advirtió también Schmidt, que el peso de la fibrina formada dependía en primer lugar de la substancia fibrinoplástica.

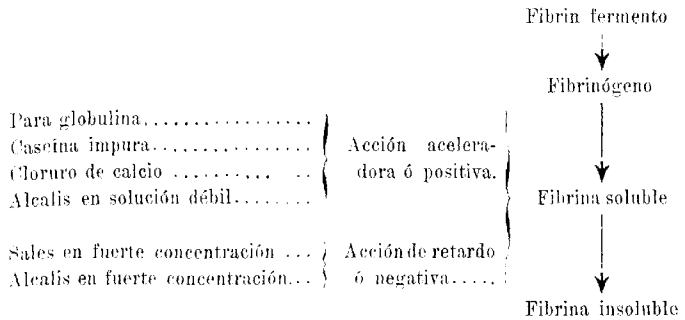
Hammarsten, estudiando la manera de obtener al estado puro los elementos necesarios para la coagulación sanguínea, aisló el fibrinógeno de todas las demás substancias que la acompañaban, y demostró que la substancia fibrino plástica de Schmidt, que luego llamó paraglobulina, no intervenían para la formación del coágulo; era suficiente la actuación del fibrin-fermento puro sobre el fibrinógeno igualmente puro para que el coágulo se produzca. La causa del por qué Schmidt no obtuvo coágulo, se debe al muy débil poder del fibrin-fermento empleado y que el agregado de para-globulina no hace más que ayudar ó acelerar el momento de la formación del coágulo; en algunos transudados no se produce la coagulación, es porque en ellos existen substancias que se oponen á la producción de este fenómeno y que son neutralizados por la acción de la para-globulina. Para explicarse la rela-

cion que existe con el peso de la fibrina y de la para-globulina, acepta Hammarsten que la para-globulina impide que algunos cuerpos sustraigan á la fibrina cierta cantidad de sales; pero esta accion de la para-globulina no es específica de ella, sino que obran como tal la caseína impura y algunas sales como el cloruro de calcio, en aquellos casos en que parece que la para-globulina actúa, según el concepto de Schmidt, es suficiente calentarlo á  $+ 56^{\circ}$ , para que destruyéndose la probable existencia del fibrin-fermento, solamente queda la accion de la para-globulina, y entonces puede observarse que el coágulo no se produce. Hammarsten, siguiendo el método de las precipitaciones parciales con sulfato de magnesia, ponía en evidencia en el plasma normal una gran cantidad de para-globulina, y aun en aquellos transudados que á A. Schmidt no coagulaban con la adición del fibrin-fermento solo, contiene, sin embargo, un 50 % de para-globulinas.

Hammarsten acepta de la segunda teoría de Schmidt sólo dos principios; el fibrin-fermento y la fase intermedia de la fibrina disuelta. Basábase para aceptar este segundo punto de vista, en que el líquido del hidrocele sólo coagula á  $+ 60^{\circ}$  y la sangre á  $+ 56^{\circ}$ ; pero si se agrega al líquido del hidrocele, el fermento y se calienta antes de producirse el coágulo, entonces el precipitado de fibrinógeno se hace á  $+ 56^{\circ}$ . El líquido del hidrocele queda límpido cuando se hiela y se deshiela, pero se pone turbio si se ha agregado fibrin-fermento. Un exceso de

sales impide la formación del coágulo. El análisis del ázoe existente en la fibrina no indica que sea el producto de unión del fibrinógeno y las paraglobulinas. Hammarsten demostró que no hay necesidad de las sales solubles para la producción del coágulo, y es suficientemente pequeña cantidad de álcali, llega en esta forma á la conclusión que la fibrina soluble es idéntica y la fibrina globulina ó que el fibrinógeno se divide en dos substancias, una soluble y otra difícil de disolver.

A esta altura la investigación de Hammarsten, puede representarse por el gráfico siguiente:



La acción de las substancias que aceleran ó que disminuyen el poder de la formación del coágulo, no son indispensables para la intervencion y el coágulo se forma sin su presencia.

Fredericq, aceptando casi todos los conceptos de Hammarsten, demuestra ligando la vena yugular externa del caballo, dejando sedimentar los elementos figurados, el plasma que sobre nada es rico en fibrinógeno coagulable

á  $+ 56^{\circ}$ . Hammarsten llamó fibrino-globulina á un cuerpo que parece no existir preformado en las soluciones puras de fibrinógeno, pero que aparece en cuanto se coagula á éste por la acción del fibrin-fermento. La fibrina-globulina se halla en el suero sanguíneo y tiene la propiedad de coagular á  $+ 64^{\circ}$ .

Los discípulos de Schmidt como Jakowiczzy, Köhler, Edelberg y Birk, estudiaron la acción del fibrin-fermento en el organismo; Naunyn no pudo obtener coagulaciones intravasculares por la inyección en el torrente circulatorio de fibrin-fermento, y sí por la acción de cuerpos albuminosos; negó entonces con Franckel la importancia del fibrin-fermento colocándose en la primer teoría de Schmidt. Ni A. Schmidt ni Jakowiczzy pudieron provocar la coagulación intravascular y explicaban este hecho diciendo que el organismo podría destruir cierta cantidad de fibrin-fermento. Köhler y Edelberg, en cambio, tuvieron más suerte y con soluciones de fermento muy enérgicas, conteniendo poca albúmina obtuvieron coagulaciones masivas en los vasos, observaban también estos experimentadores que la inyección de este fermento produce elevación de temperatura, y sobre este hecho creaban una teoría atribuyendo un gran rol al fibrin-fermento, en la producción de la fiebre. Este concepto ha sido totalmente abandonado.

Jakowiczzy y Birk, de acuerdo con su modo de pensar, buscaron la existencia del fibrin-fermento directamente en la sangre y siempre encontraron cantidades variables

en esta substancia. Köhler y Haykraft no pudieron comprobar esas afirmaciones. Otros discípulos de Schmidt se dedicaron al estudio del febrin-fermento y consideraban, como hemos visto, al leucocito destruido, factor indispensable para poner en libertad al fermento. Rauschenbach demuestra que cualquier célula del organismo obra sobre el plasma salado, el plasma enfriado y los exudados, acelerando considerablemente la aparición del coágulo, mientras que estas mismas células agregadas á otros exudados y ciertos transudados el coágulo no se produce y supuso que habría un prefermento, al que dió el nombre de «Protozina». Esta protozina se encuentra en todas las células ricas en nucleínas, por ejemplo, los espermatozoides. Rauschenbach explicaba que la presencia del febrin-fermento en el plasma era debido á una influencia activadora que no existen en ciertos transudados. Estos trabajos fueron completados por Grohmarin y Groth, quienes demostraron que no solamente es el protoplasma animal, sino el protoplasma vegetal, principalmente las bacterias forman fibrin-fermento bajo la influencia del plasma.

Wooldridge y Groth demuestran que es más fácil conseguir la coagulación intra-vascular por la inyección de células que por el fibrin-fermento. Samson y Nauk trataban de obtener la trombozina de Rauschenbach y creyeron haberlo encontrado en sustancias nitrogenadas especialmente los aminoácidos, corresponde también á estos autores el haber hallado que la acción atribuída por

Schmidt á la hemoglobina no corresponde á esta sino más bien al estroma de los glóbulos rojos. Kollmann defendió la idea de que todas las células del organismo después de varias etapas sucesivas contribuyen á formar parte de la fibrina.

Schmidt sin querer aceptar de que había emitido alguna vez una teoría sobre la coagulación de la sangre tiene forzosamente, dado los nuevos hechos adquiridos de ampliar sus ideas primeras y hace resaltar que la coagulación de la sangre es en último término un proceso totalmente celular no solamente para el fibrinógeno sino también para el fibrin-fermento. Las fases en que se verifica la coagulación, son por lo menos dos: 1.º, formación del fibrin-fermento y 2.º, la acción de éste sobre el fibrinógeno y las sustancias fibrinoplásticas, para que luego se transformen en fibrina soluble y esta á su vez en fibrina insoluble por la intervención de las sales neutras. La primer fase, es decir, el origen del fibrin-fermento, se hace á expensas de los glóbulos blancos de la sangre, pero estos elementos morfológicos no contiene el fibrin-fermento activo sino un prefermento como lo quería Rauschembach, que se activa por la presencia del suero, pero Schmidt, invierte la ecuación dada por Rauschembach y cree que las sustancias activadoras del prefermento se encuentran los leucocitos y por ende en todas las células del organismo en cambio el prefermento, se encuentra en el plasma.

Schmidt llama al fibrin-fermento, trombina; al pre-

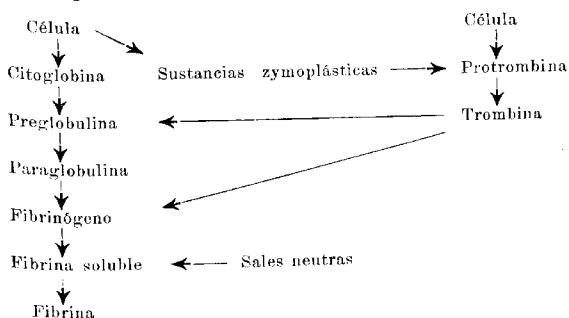
fermento, protrombina; y á las sustancias activadoras y en especial sus extractos alcohólicos, sustancias zimoplásticas.

Estas sustancias zimoplásticas son de naturaleza diversa á la trombina, por que son estables á la acción del calor é ineficaces cuando se ponen en contacto con líquido del organismo que contienen soluciones puras de fibrinógeno en cambio disminuyen el tiempo de coagulación en el plasma enfriado y en el plasma salado. Rauschrenbach y Groth, demuestran que dejando el suero en contacto con el aire durante cierto tiempo su acción de fermento disminuye de una manera tal que pronto se hace ineficaz, agregando cantidades determinadas de extractos alcohólicos de Schmidt se obtiene un poder fermentativo 30 veces superior al de la trombina inicial. Schmidt explica este hecho diciendo que después de la coagulación de la sangre, una pequeña cantidad de protrombina era activada por dichas sustancias zimoplásticas, pero luego sustancias del suero que impiden el coágulo detienen el efecto de las sustancias zimoplásticas y es necesario nueva cantidad de esta sustancia para reactivar cantidades de protrombina y la formación de trombina. Las pequeñas cantidades de álcali aumentan el poder fermentativo, Schmidt supone que no acciona sobre el fermento y sólo favorece la acción de las sustancias zimoplásticas. La protrombina es una sustancia termolábil, no dialisa y se precipita con las globulinas pero se diferencia de la trombina además de su falta de

acción como fermento resiste mejor á las diversas condiciones fisio-químicas.

Schmidt da mucha importancia como factor que impide la coagulación de la sangre obrando sobre las sustancias zimoplásticas, al residuo rico en fósforo que se obtiene por el agua después de agotar las células por el alcohol. A estas sustancias llama citoglobinas. Schmidt piensa que en el plasma de la sangre circulante se halla una protrombina, y como en la circulación se destruyen algunas células, es decir, da lugar á la presencia de sustancias zimoplásticas es fácil comprender lo indispensable de la presencia de la citoglobina como factor que impide la formación de trombina, y por lo tanto este equilibrio mantiene la sangre flúida. Según Schmidt, la citoglobina debe pasar por la pre-globulina y la paraglobulina para formar, por último, el fibrinógeno. El aumento del peso de la fibrina, después de agregar citoglobina ó para-globulina es una prueba de estas afirmaciones.

Morawitz reproduce esquemáticamente la tercer teoría de la coagulación de Schmit del siguiente modo:



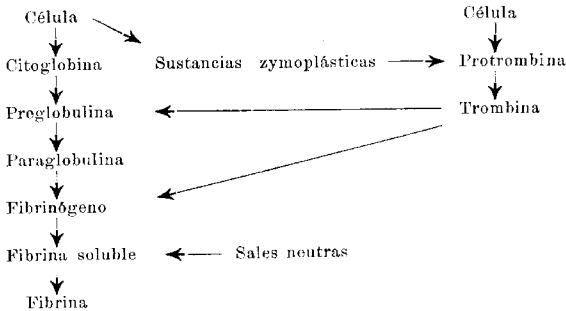
fermento, protrombina; y á las sustancias activadoras y en especial sus extractos alcohólicos, sustancias zimoplásticas.

Estas sustancias zimoplásticas son de naturaleza diversa á la trombina, por que son estables á la acción del calor é ineficaces cuando se ponen en contacto con líquido del organismo que contienen soluciones puras de fibrinógeno en cambio disminuyen el tiempo de coagulación en el plasma enfriado y en el plasma salado. Rauschembach y Groth, demuestran que dejando el suero en contacto con el aire durante cierto tiempo su acción de fermento disminuye de una manera tal que pronto se hace ineficaz, agregando cantidades determinadas de extractos alcohólicos de Schmidt se obtiene un poder fermentativo 30 veces superior al de la trombina inicial. Schmidt explica este hecho diciendo que después de la coagulación de la sangre, una pequeña cantidad de protrombina era activada por dichas sustancias zimoplásticas, pero luego sustancias del suero que impiden el coágulo detienen el efecto de las sustancias zimoplásticas y es necesario nueva cantidad de esta substancia para reactivar cantidades de protrombina y la formación de trombina. Las pequeñas cantidades de álcali aumentan el poder fermentativo, Schmidt supone que no acciona sobre el fermento y sólo favorece la acción de las sustancias zimoplásticas. La protrombina es una substancia termolábil, no dialisa y se precipita con las globulinas pero se diferencia de la trombina además de su falta de

acción como fermento resiste mejor á las diversas condiciones fisio-químicas.

Schmidt da mucha importancia como factor que impide la coagulación de la sangre obrando sobre las sustancias zimoplásticas, al residuo rico en fósforo que se obtiene por el agua después de agotar las células por el alcohol. A estas sustancias llama citoglobinas. Schmidt piensa que en el plasma de la sangre circulante se halla una protrombina, y como en la circulación se destruyen algunas células, es decir, da lugar á la presencia de sustancias zimoplásticas es fácil comprender lo indispensable de la presencia de la citoglobina como factor que impide la formación de trombina, y por lo tanto este equilibrio mantiene la sangre flúida. Según Schmidt, la citoglobina debe pasar por la pre-globulina y la paraglobulina para formar, por último, el fibrinógeno. El aumento del peso de la fibrina, después de agregar citoglobina ó para-globulina es una prueba de estas afirmaciones.

Morawitz reproduce esquemáticamente la tercer teoría de la coagulación de Schmit del siguiente modo:



Morawitz critica especialmente la acción de la citoglobina; esta substancia no es otra cosa que un núcleo proteído impuro, y no se ha podido determinar las relaciones que existen entre la citoglobina y el fibrinógeno. Estas teorías de Schmidt no tuvieron mucho eco en su época, y sólo era aceptado el concepto de Hammarsten.

Habíamos indicado que Schmidt pensaba que eran las sales neutras, alcalinas y alcalinas terrosas las encargadas de transformar la fibrina disuelta en fibrina insoluble y por lo tanto no determinaba á ninguna base alcalina ó alcalina terrosa, un papel específico.

Hammarsten aunque reconoció que las soluciones de cloruro de calcio aceleraban la coagulación como la cantidad de fibrina formada, pero podía hacer actuar el fibrin fermento sobre soluciones de fibrinógeno y la fibrina se producía en ausencia de sales de calcio.

Green en 1887, observa que algunos líquidos incoagulables quedaban en el mismo estado agregándoles cantidades variables de sulfato de calcio, pero en aquellos plasmas en que la coagulación se hacía en largo tiempo fué suficiente agregar pequeñas soluciones de yeso para ver rápidamente coagularse el líquido. Green pensó que las soluciones de calcio no obran como fibrin-fermento sino como substancia que disminuye el tiempo que tarda la sangre en coagularse; pero las experiencias no fueron muy demostrativas.

Ringer y Sainsbry demuestran que no solamente el yeso tiene esta acción sino que también la poseen todas

las sales solubles de calcio, las de estroncio y bario en concentraciones pequeñas.

Freund en 1888, es el que da la primer teoría del coágulo, basado especialmente en la acción del fosfato de calcio, hallado por Brücke en las cenizas de la fibrina. Freund propone explicar la teoría de la coagulación de la sangre, diciendo que en ella se encuentran sales de calcio solubles y que los glóbulos de la sangre contienen fosfatos alcalinos. Una vez extravasados los glóbulos sanguíneos, éstos se destruyen, dejando en libertad el fosfato alcalino que se combina á las sales de calcio del plasma, formándose así, un fosfato de calcio insoluble que precipita trayendo consigo mecánicamente á la fibrina.

Freund basa su teoría en un hecho reconocido por Brücke, confirmado por Haykraft y últimamente por Bordet y Gengou; recogiendo la sangre en un recipiente vaselinado ó engrasado, según estos últimos autores, parafinados, y batiendo el plasma con varillas de vidrio vaselinadas, engrasadas ó parafinadas, por muchas horas no se produce la coagulación sanguínea; es probable que la fibrina se adhiera por cohesión al fosfato tricálcico formado, que no reúne las condiciones de las varillas engrasadas.

La segunda prueba de su teoría, consiste, una vez extraída la fibrina y si se agrega una nueva cantidad de fosfato de calcio, se obtiene una nueva cantidad de fibrina. Strauch, demuestra que las soluciones puras de fibrinógeno no coagulan con la adición de fosfato de calcio, y sí, lo hacen agregando trombina. Arthus á un transudado

le agrega fosfato de calcio luego hace pasar una corriente de anhídrido carbónico y disuelve así una parte del fosfato insoluble.

Se filtra el líquido que queda perfectamente límpido y entonces se hace atravesar una corriente de aire calentada á  $+ 40^{\circ}$  y en esta forma se precipita el fosfato tricálcico sin la menor cantidad de fibrina. Delezenne, trabajando sobre el plasma de los pájaros llega á los mismos resultados que Arthus.

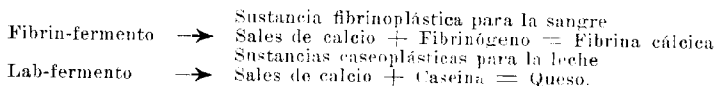
A. Pekelharing le corresponde el haber dado el golpe de gracia á la teoría de Freund inyectando en la circulación general, de animales, el difosfite de sodio, no produciendo la coagulación intravascular.

Arthus y Pagés son los que realmente demuestran la acción y la importancia de las sales de calcio en el fenómeno de la coagulación; se basa especialmente, si se recoge sangre en cantidades determinadas de oxalato de sodio ó de fluoruro de sodio se obtiene plasmas oxalatados ó fluorurados que son incoagulables abandonados á sí mismo, pero, no tardan en hacerlo en cuanto se agregan pequeñas cantidades especialmente de calcio; también coagulan con estroncio, pero no, con bario ni magnesio. Faltaba saber ahora en que tiempo del coágulo es necesaria la acción del calcio: para formar trombinas, ó para formar fibrinógeno ó permitir actuar un elemento sobre el otro? Para Arthus y Pagés la acción del calcio, sirve para transformar el fibrinógeno en fibrina, coadyuvando á la acción de la trombina ó que es lo mismo la trombina no puede

actuar sobre el fibrinógeno sino lo hace en presencia de las sales de calcio. Admitían Arthus y Pagés que el plasma oxalatado contenía trombina, porque este plasma era capaz de producir la coagulación de los transudados ó líquidos que contienen soluciones puras de fibrinógeno; luego el agregado de fibrin-fermento era incapaz de producir la coagulación del plasma oxaltado y por último el peso de la fibrina depende especialmente de las cantidades de sales de calcio existentes. Arthus y Pagés comparan la coagulación á la formación del queso y dicen: «El fibrinógeno precipitado á la temperatura  $+ 58^{\circ}$  á  $+ 60^{\circ}$  y en solución saturada de cloruro de sodio es caseificado por el fibrin-fermento en presencia de las sales de calcio. La sangre fuera de los vasos se caseifica como la leche bajo la acción del lab-fermento. La caseificación, es la transformación química que una substancia albuminoidea bajo la influencia de un fermento da lugar á la formación de un compuesto cálcico insoluble. Un queso.

El fibrinógeno homólogo á la caseína. El fibrin-fermento al lab-fermento. La fibrina al queso. La albumosa del lacto-serum á la globulina de Hammarsten, coagulable á  $+ 64^{\circ}$ . El calcio juega el papel de substancia caseo-plástica para leche y de fibrino-plástica para la sangre. Las diferencias con la coagulación de la leche es que en ésta puede hacerse á expensas de un caseógeno y obtener 4 quesos que corresponde á los 4 metales alcalinos terrosos».

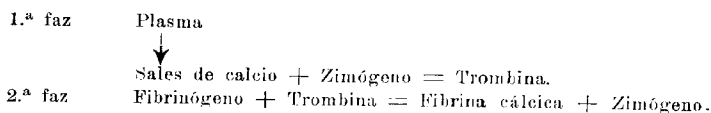
Se puede representar el concepto de Arthus y Pagés aproximadamente con el siguiente esquema:



Pekelharing demuestra que el plasma oxalatado no tiene trombina, porque no es capaz de producir coagulaciones en el plasma magnesiado de Schmidt ó en las soluciones puras de fibrinógeno.

Estas observaciones hacen pensar á Pekelharing, si en el plasma oxalatado por la acción de las sales de calcio se convierte en fibrin-fermento activo.

La trombina una vez formada puede coagular al plasma oxalatado y explica las experiencias negativas de Arthus y Pagés por el poco poder del fermento usado. La trombina hay que considerarla como una combinación cálcica no precipitable por el oxalato y la ceniza de la trombina es rica en calcio. Pekelharing va más lejos y concede al calcio una acción importante en la segunda fase del proceso; porque según este autor la fibrina es un compuesto cálcico y entonces hace jugar al zimógeno el papel de un transportador de sales de calcio, roba primero al plasma y lo traspara al fibrinógeno para que éste se transforme en fibrina cálcica insoluble. Este esquema indica más ó menos el concepto de Pekelharing:



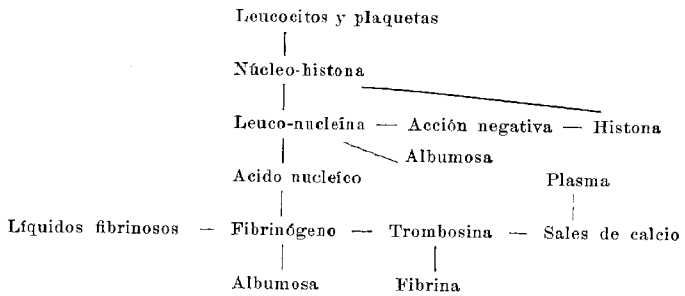
Y así, este fenómeno se reproduce hasta agotar por completo la cantidad de fibrinógeno.

Hammarsten llamó la atención á Pekelharing sobre una demostración de este último autor; en que la trombina por sí sola era capaz de coagular á una solución de fibrinógeno sin la presencia de sales de calcio precipitables por el oxalato, lo que venía á dificultar la comprensión de la segunda faz de la teoría de Pekelharing, si á este hecho se agrega la observación de Hammarsten, que debe cesar la transposición de las sales de calcio en cuanto no haya más calcio en el plasma ambiente.

Lilienfeld niega la importancia del fibrin-fermento en la coagulación sanguínea y cree que este fenómeno depende más de la substancia contenida en los núcleos de los leucocitos y plaquetas. Lilienfeld consigue, haciendo extractos acuosos de leucocitos y tratados por ácido acético, aislar un cuerpo, la núcleo-histona. Esta núcleo-histona por acción de los ácidos minerales se divide en la leuconucleína, formada por el ácido nucleico en combinación con una albumosa y por otro lado la histona de propiedades análogas á las histonas. La leuconucleína tiene lo mismo que el fibrin-fermento la propiedad de producir el coágulo en los líquidos que contengan fibrinógeno. El poder de acción de la leuconucleína la debe al grupo ácido del ácido nucleico y puede ser reemplazado por ácidos orgánicos. La función ácida de las substancias dividirían al fibrinógeno en una trombosina y una albumosa soluble. Las sales de calcio tendrían el ob-

jeto de precipitar á la trombosina y hacerla insoluble.

El fibrin-fermento sería para Liliensfeld, no un agente necesario para la coagulación, sino un producto de esta coagulación no teniendo acción sobre el fibrinógeno sino sobre las substancias nucleicas separadas de los leucocitos. Según Liliensfeld la acción de histona sería negativa es decir impide la formación del coágulo. Una representación gráfica aproximada del concepto de Liliensfeld sería el siguiente:



La inyección intra-vascular produce la incoagulabilidad de la sangre en cambio la intrusión en la corriente circulatoria de la leuco-nucleína produce trombosis; inyectando núcleo histona se obtiene primero coágulo intra-vasculares y luego recién la incoagulabilidad sanguínea, pudiendo á veces encontrarse los dos fenómenos simultáneamente es decir, en algunas partes trombosis y en otras la sangre flúida.

Las críticas sobre la histona lo hace Morawitz diciendo

que este cuerpo probablemente es idéntico á la citoglobina de Schmidt.

Schäfer Cramer, Hammarsten demuestran que la trombosina de Lilienfeld no es más que fibrinógeno precipitable.

Schmidt dirigió sus ataques principalmente contra Arthus y Pekelharing. Para Schmidt no es la falta de las sales de calcio por lo que no se produce el coágulo en los plasmas oxalutados, sino porque el oxalato á la concentración usada es suficiente por sí solo para oponerse á la coagulación sanguínea; apoyaba sus ideas en que dializando con un líquido exterior de cloruro de sodio, obtenía el coágulo en el dializador; sin que hubiera la menor cantidad de sales de calcio. Luego, no solamente el oxalato ó el cloruro de álcali tiene esta acción sino que los extractos alcalinos, que no precipitaban las sales de calcio, era suficiente pequeña dosis de ello, para detener la coagulación; habiendo no obstante grandes cantidades de sales de calcio en el plasma, lo que se puede convencer agregando oxalato al líquido con citratos alcalinos y obtener así un precipitado muy manifiesto, de oxalato de calcio. Schmidt llevó más adelante sus críticas y creyó demostrar que la cantidad de calcio, hallada por Arthus y Pekelharing, en la fibrina era extraña á su misma constitución íntima, lo que demostró haciendo actuar varias veces el alcohol y el éter sobre la fibrina. Schmidt vuelve á negar la especificidad de las sales de calcio y agrega que la coagulación del líquido puro de fibrinógeno por

acción del fibrin-fermento; parecía no tener necesidad de esta sal, era porque con este procedimiento se obtiene un tenor muy alto en cloruro de sodio.

Arthus contesta á la objeción de Schmidt demostrando que la no formación del coágulo no se debe á la concentración del oxalato empleado y explica la coagulación en el dializador por el contenido en calcio que tiene el cloruro de sodio impuro; en cuanto á los citratos, pensó y ha sido confirmado por Sabbatini, que esta substancia impide á cierta concentración la ionización de las sales de calcio; por lo tanto, detiene por falta de este elemento la formación del coágulo sanguíneo.

Ultimamente (1910) H. Stassano y H. Dumas han querido demostrar que las sales de calcio intervienen en las dos fases de la coagulación. Para demostrar la acción de los iones de calcio en el primer tiempo toma un plasma fuertemente salado y coloca en un dializador, siendo su medio exterior una solución de cloruro de sodio de la misma concentración que la usada para formar el plasma salado. En esta forma cambiando el medio externo durante veinte días obtiene la eliminación casi total de las sales alcalino y alcalino terrosas á excepción del cloruro de sodio; en esta forma volviendo á diluir el plasma no se obtiene la coagulación espontánea y sólo se produce, cuando se agrega cantidad suficiente y dentro de cierto límite de una solución de sal de calcio fácilmente ionizable. Los autores obtienen igualmente la coagulación con el cloruro de estroncio y el cloruro de bario, obtienen

estos experimentadores que, 0.000021 grs. de cloruro de calcio por centímetro cúbico de plasma es la cantidad óptima y ya 0.000013 grs. de cloruro de calcio es inactivo. Obtenido el suero del coágulo exprimido, y agregándolo á la serosidad peritoneal del caballo, éste se coagula pero variando de minutos á horas, cuando se agrega cloruro de calcio, cloruro de estroncio, cloruro de bario, cloruro de potasio ó cloruro de magnesia, y en este orden la coagulación se hace tanto más rápida cuanto más cerca del calcio estamos y cuanto más concentrada es esta sal.

Nosotros, usando el procedimiento indicado al hablar de la técnica, obtenemos trabajando en la sangre normal del hombre, la cantidad máxima de 0.01 grs. de cloruro de calcio por centímetro cúbico de plasma oxalatado, mayor de esta cantidad ya no coagula en 15 minutos á 37°; la cantidad mínima del cloruro de calcio es de 0.00000000002 grs.; por debajo de esta cantidad no se obtienen en la generalidad de las veces la coagulación del plasma sanguíneo. En lo que se refiere á la acción del calcio en la segunda faz del proceso, buscaremos en Hammarsten su explicación.

Hammarsten confirma, en primer lugar, las experiencias de Arthus, pero el plasma centrifugado, que se obtiene de la sangre oxalatada, contiene cantidades evidentes de calcio, no precipitables por el ácido oxálico. Dejando el plasma oxalatado á baja temperatura, puede obtenerse un precipitado del cual se extrae fácilmente

fibrinógeno; esta solución de cloruro de sodio puro no precipita agregando el cloruro de calcio, en cambio lo hace con la trombina, libre igualmente de calcio.

El plasma oxalatado, dice Hammarsten, coagula por la acción del fibrin-fermento, pero más difícilmente. Con estas experiencias trata Hammarsten de demostrar que las sales de calcio son innecesarias en el segundo tiempo del coágulo; por lo tanto, las ideas de Arthus, Pekelharing, Stassano y Dumas son inexactas. Las experiencias de Schmidt no dan resultado en manos de Hammarsten, porque probablemente el plasma oxalatado usado por Schmidt en su dializador, contenía vestigios de fibrin-fermento.

El plasma oxalatado, bien preparado, no contiene trombina, sino según Pekelharing, un cuerpo, una protrombina, activada por las sales de calcio. Es necesario agregarle calcio para que coagule el plasma oxalatado, lo que se deduce que estas sales de calcio son indispensables para la primer faz del proceso de la coagulación; El calcio es específico, sólo puede reemplazarse con el estroncio.

La fibrina no necesita ser una sal cálcica, y esto lo demuestra Hammarsten después de repetidos análisis; y concluye que el tenor en calcio de la fibrina no es mayor que el que normalmente contiene el fibrinógeno precipitado por el procedimiento de Hammarsten. Arthus y Pekelharing aceptan en sus últimos trabajos los conceptos admitidos por Hammarsten.

Hammarsten no quiso dejar indicaciones que demostraran como actúan las sales de calcio para formar la trombina.

La composición química de la trombina no ha sido aclarado hasta hoy día. Los ingleses han tratado de obtener la trombina pura, y siempre contenían pequeñas cantidades de albúmina. La trombina en estas condiciones tenía un buen poder de fermento. En favor de la naturaleza albuminosa habla el hecho que su acción se acelera agregando extracto de tejido. La acción del alcohol parece detener la acción de la trombina. Naunyn, Buchanan, Rauschembach, Foá y Pellacani, han podido obtener coagulaciones intra-vasculares con extractos de tejidos y han creído que la trombina fuera un derivado del protoplasma.

Luego los extractos de los tejidos han sido considerados, no como fibrin-fermento sino como una faz anterior á ella y la sinouimia que posee indica las diferentes opiniones que se tenían de ella: «Globulina celular», «fibrinógeno celular ó de tejidos», «núcleo histona», «núcleo albúmina», «núcleo proteído del tejido», «coagulina», «substancia zimoplástica de Schmidt» que probablemente se debe colocar en este grupo.

Schmidt como sabemos, llamó substancias zimoplásticas á los extractos alcohólicos, y no actuaba como trombina sino en una faz anterior. En cambio Hallinburton y Pekkharling, como un fermento de fibrina. Hallinburton y Friend obtienen, una globulina en los tejidos llamada por ellos «Globulina celular» y que como la globulina de Gan-

gee, tiene algunas propiedades que corresponden á las sustancias fibrinoplásticas. Halliburton obtiene de los linfocitos, por intermedio del sulfato de sodio y precipitación por el sulfato de magnesio, dos globulinas: una precipitable á 50°, llamada por Halliburton globulina A, ineficaz; y la otra, globulina B, coagula 75°, tiene la misma propiedad de la trombina y se extrae también del estroma de los glóbulos rojos.

Para Pekelharing los extractos celulares actúan como zimógeno, y su constitución no es una globulina sino un núcleo proteído. Pekelharing obtiene, después de eliminar el fibrinógeno y las globulinas, del plasma oxalato una substancia á la cual si se agrega cloruro de calcio da lugar á la formación de una trombina eficaz. Este núcleo proteído no se encuentra en el plasma circulante, y solo aparece después de la destrucción de plaquetas y leucocitos; esto lo demuestra por la acción del extracto de sanguijuelas y así no obtiene ningún núcleo proteído, en cambio en el plasma oxalato se forma el zimógeno, pero, el oxalato impide su unión con las sales de calcio para formar trombina, los extractos de tejidos en unión con los sales de calcio funcionan como fibrinógeno, según Pekelharing, solo se diferencia de las obtenidas del plasma porque se hacen ineficaces á temperatura diferente.

Las objeciones á los conceptos de Pekelharing, fueron hechos por Halliburton y Brodie y quienes hacen ver que el zimógeno calcificado de Pekelharing no es capaz de

coagular al plasma salada y Hammarsten cree que el calcio no se combina con el zimógeno, esto parece justificado, por que el fibrin-fermento preparado del plasma, de un poder muy intenso tiene vestigios de núcleo proteído, en cambio los núcleo-proteídos obtenidos por Pekelharing, de los extractos, actúan de un modo muy deficiente.

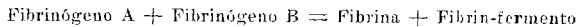
Delezenne demuestran que la sangre obtenida directamente de las aves, peces, reptiles, recogidos en recipientes limpios, coagulan pero muy lentamente, naciendo el coágulo de la capa de los leucocitos. Centrifugado, el plasma recogido coagula difícilmente, á veces es sorprendida por la putrefacción sin coagularse; es suficiente agregarle extracto de músculo hara hacer coagular á este plasma en menos de un minuto. Fuld pensó que sería la acción de la substancia zimoplástica de Schmidt, pero tuvo que abandonar esta opinión por que los extractos musculares pierden su acción á los 57°, en cambio las substancias zimoplásticas son estables.

Arthus demuestra que el fluoruro de sodio á pequeñas concentraciones 0,3  $\frac{v}{o}$  no impide la acción del fibrin-fermento. Arthus comprueba que la sangre puesta en contacto con los tejidos coagula muy rápidamente. Esta substancia no puede ser fibrin-fermento porque no coagula al plasma fluorurado, tampoco contiene protrombina, porque agregándole calcio tampoco actúan como fibrin-fermento, pero Arthus se equivoca cuando cree que la acción de los extractos celulares se debe á que obligan á dejar en libertad la trombina contenida en los glóbulos blancos.

Heuslett se opone á este último concepto de Arthus demostrando que los extractos celulares actúan del mismo modo en el plasma incoagulable libre de células.

Wooldridge, idea una teoría original defendida por Wright, en parte aceptada por Hayem.

Wooldridge, obtiene de los plasmas incoagulables y á temperatura diferente dos fibrinógenos: el primero á 0° llamado fibrinógeno A y el segundo fibrinógeno B. Según Wooldridge la coagulación se debería solamente á la acción del fibrinógeno A sobre el fibrinógeno B; eliminando el fibrinógeno A el plasma se mantiene incoagulable; en cambio, agregando este fibrinógeno la coagulación se hace en poco tiempo. El plasma peptonizado que contiene los dos fibrinógenos se coagula por la acción de una corriente de anhídrido carbónico. Wooldrige acepta la presencia del fibrin-fermento, pero solo niega que éste actúe coagulando al fibrinógeno; es un producto de la coagulación como puede verse por este esquema:



El fibrin-fermento depende en su mayor parte de la cantidad de fibrinógeno A; cuanto mayor cantidad de fibrinógeno A se halla en el plasma mayor será la cantidad de fibrin-fermento libre. Wooldrige piensa que es posible reemplazar la acción del fibrinógeno por las lecitinas (cerebro, testículo, etc.), excepción hecha de la lecitina del huevo.

Sería, según Wooldridge, la coagulación sanguínea, un cambio de relaciones entre las lecitinas y las albúminas. Para los demás autores el fibrinógeno A no es más que un precipitado de plaquetas, el fibrinógeno B que no coagula por la acción del fibrin-fermento, sería, según algunos, una etapa anterior del fibrinógeno de Hammarsten.

La causa que según Wooldridge la sangre es incoagulable dentro de los vasos se debe á una faz negativa de las acciones de ambos fibrinógenos.

La teoría de Wooldridge ha sido abandonada, debido á las observaciones de Halliburton, Pekelharing y Kruger, quienes demostraron que el fibrinógeno A es sólo el zimógeno del fermento de fibrina. Wright creyó que el fibrin-fermento es el fibrinógeno de los tejidos con sales de calcio: más tarde modificó su opinión en el sentido de que el fermento no provenía de las células, sino de la linfa mezclada á la sangre.

Morawitz demuestra que las divergencias de Schmidt por una parte y de Arthus, Hammarsten y Pekelharing por otra, se debe á que la protrombina de Schmidt es diferente á las demás. Hay, por lo menos, según Morawitz, dos etapas de la trombina inactiva; una, se encuentra en el plasma oxalatado y que sólo muestra su acción por las sales de calcio, llamado por Pekelharing protrombina y Morawitz protrombina A, la otra faz ineficaz de la trombina, se halla al lado de éste y es activado por las soluciones ligeramente ácidas ó alcalinas, llamadas por Morawitz protrombina B y por Fuld metazimógeno. Esta

protrombina B se halla en el suero sanguíneo, y se adhiere á la fibrina pudiendo ser obtenida por el procedimiento de Howell, á este, el nombre dado por Schmidt de metatrombina es el más adecuado. La diferencia de la trombina y de la metatrombina son pocas; ambas se destruyen casi á la misma temperatura, solamente que la acción del aire disminuyendo la acción de la trombina, deja, sin embargo, cantidades notables de metatrombina. Un hecho importante y que conviene señalar, aunque no ha encontrado una explicación eficiente, es que la metatrombina, activada por los álcalis, no actúan como tal en presencia del suero fresco. Algunos piensan que se trata de anticuerpos.

El procedimiento de Schmidt para preparar sustancias zimoplásticos en manos de Morawitz no lo condujeron á nada práctico, en cambio con el extracto de tejidos, de timus, hígado, glándula linfática, estroma de glóbulos rojos, etc., extraídos con una solución de cloruro de sodio; ha llegado á conclusiones que luego estudiaremos. Estas sustancias no son constantes al calor, disminuyen el tiempo del coágulo, se vuelven ineficaces con el tiempo, aun resguardándolo de la putrefacción; al estado de polvos conservan sus propiedades, insoluble en alcohol, según Nolf; incapaces de coagular una solución pura de fibrinógeno de Hammarsten. No coagulan los plasmas oxalados ó fluorados aun agregando previamente pequeñas cantidades de calcio, ó igualmente no coagula agregando á estas sustancias soluciones de calcio y de

fibrinógeno puro ó de los líquidos como el hidrocele actúan como tal. Ayuda á la formación del coágulo, de la sangre en total, pero siempre en presencia del calcio, al plasma con extracto de sanguijuelas, de peptona y gauso. La acción del suero es reforzado con este extracto. A esta substancia llama Morawitz tromboquinasa, y Fuld citozima; en cambio á la substancia que existe en el plasma lo llama Morawitz trombógeno y Fuld plasmozima. La tromboquinasa de Morawitz existe en todas las células del organismo. Morawitz creyó al principio que el trombógeno sólo se pone en libertad cuando se destrúan las plaquetas sanguíneas, pero los trabajos de Bordet y Gengou demostraron la presencia del trombógeno en el plasma florurado, y la falta de trombógeno en los envenenamientos por el fósforo á pesar de contener grandes cantidades de plaquetas.

Bordet y Delange llaman al trombógeno, serozima.

Nolf, después de tratar al plasma florurado al 3  $\frac{0}{100}$  por el cloruro de calcio, precipítase el floruro de calcio con una gran cantidad de fibrina; defibrinándola de una manera completa, se observa una segunda coagulación, en el líquido de experiencia, aunque esta segunda coagulación puede faltar á veces. Después de esta segunda coagulación existe cierta cantidad de fibrinógeno que no coagula como el fibrinógeno ordinario, siendo, según Nolf, refractarios á la acción de los polvos, cuerpos porosos, etc., y sólo coagula por tercera vez agregando emulsiones de plaquetas, de leucocitos ó de extractos de

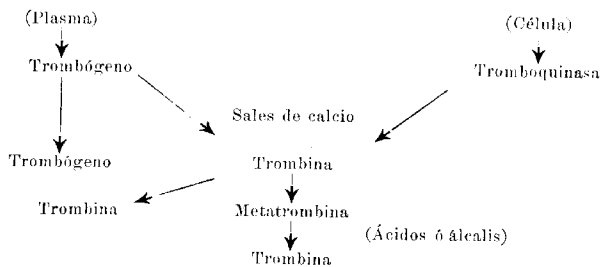
órganos. Luego, una vez obtenido este coágulo, eliminada la fibrina, el líquido que resta no se deja influenciar por nuevos agregados de extractos de órganos; en cambio, si se agrega soluciones de fibrinógeno puro, se observa un nuevo coágulo. Existe otro procedimiento. Se recoge el plasma oxalatado de perro y se somete á temperaturas de 37° á 38°; en esta forma no coagula por la acción de los cuerpos porosos, pero lo hacen en cuanto se ponen en contacto con un extracto de plaquetas. Defibrinado y dejado varios días á 37°, se hace incoagulable, aun agregando extracto de órganos, pero se coagula agregándose fibrinógeno puro. Llevado el líquido después de la primera coagulación á temperaturas de 55° ó 56° se comporta una sola vez como el plasma florurado. De estas experiencias Nolf deduce que existe una substancia que llama con Morawitz trombógeno, encontrándose ella tanto en el plasma circulante como en el suero. Nolf emite la opinión que los extractos de leucocitos contienen poca cantidad de trombógeno, pero Morawitz, que hizo igualmente estas observaciones, cree que son objetables las afirmaciones de Nolf, desde el instante que contienen trombógeno el plasma florurado. Arthus llamó la atención que los transudados no tienen trombógeno, pero puede creerse que el trombógeno pierde su eficacia si no pasa una nueva cantidad de líquido de la sangre al los transudados.

Nolf, basándose en los trabajos de Corin y Ansiaux, Morawitz y de él mismo, sobre la intoxicación fosforada

y la disminución del trombógeno después de la extirpación del hígado y por último las inyecciones de propeptona, deduce que es al hígado á quien está encomendado la fabricación del trombógeno. Sin embargo, Morawitz, no cre suficientemente aclarado este problema.

Fuld, Spiro y Morawitz llegan á la conclusión que el fibrin-fermento está formado por la unión de tres elementos: la tromboquinasa, el trombógeno y las sales de calcio. La forma como se agrupan, Morawitz piensa, que la tromboquinasa actúa como amboceptor. Las sales de calcio, deja para que estudios posteriores aclaren su modo de actuar. Una parte de la trombina pasa al estado de metatrombina.

Morawitz, representa gráficamente la primer faz de la coagulación sanguínea ó sea la formación de trombina, según el concepto de Fuld, del siguiente modo.



En la sangre circulante no existe tromboquinasa, porque ésta formándose lentamente, se hace inofensiva por la acción de los cuerpos que impiden el coágulo. El hecho

de que los autores habían querido ver en los extractos de tejidos, un zimógeno actuado por las sales de calcio, se explica porque tanto el plasma de peptona, como de ganso, con los que han trabajado dichos autores, contienen trombólgeno; en cuanto á las experiencias de Peki-haring, puede creerse que empleó un fibrinógeno impuro, es decir, conteniendo todavía trombólgeno.

Loeb insiste sobre la acción de las «coagulinas» y la falta de importancia de las sales de calcio. No volveremos á insistir sobre las objeciones que han sido estudiadas en páginas anteriores.

Hay que agregar que á los elementos indicados, tromboquinasa, trombólgeno, sales de calcio y fibrinógeno que tienen tendencia á coagularse, es detenida por la anti-trombina, ó antitrombosina de Nolf, ó los anticoagulantes de B. Y. Callingwood y M. T. Mac Hahon; hay que indicar la presencia de una substancia que no teniendo acción sobre ninguno de los elementos aisladamente, rompe en cambio el equilibrio de los tres coloides como lo llama Nolf y efectuar así la coagulación. Estos cuerpos extraños puede ser la pared de vidrio y es denominada por Nolf substancias de acciones tromboplásticas. Entre estas substancias entra, según Nolf, la tromboquinasa de Morawitz y la trombina. La acción tromboplástica depende de varios factores, según Nolf.

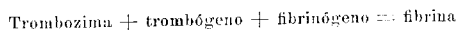
«1.º De la concentración de las substancias, que tiene un óptimo por encima y por debajo de la cual decrece.

2.º De la naturaleza química de la substancia y de su estado físico.

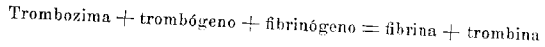
3.º De la cantidad de antitrombina.

4.º De la cantidad de trombozima».

Nolf llama trombozima á la emulsión de plaquetas y leucocitos y Bordet y Delange, citozima. Nolf, después de demostrar, trabajando con el plasma obtenido de la vena, que todas las acciones, aun las más banales, ayudan á la coagulación así como el polvo de vidrio, el musgo de platino y del mismo modo explica la acción más eficiente del oxalato de calcio coloidal comparado con el oxalato de calcio cristalino. El aceite de oliva en emulsión muy fina produce el coágulo en un plasma estable. Por otro lado, Nolf supone que el plasma contiene todos los elementos necesario para coagularse, y sino lo hace es por faltarle las substancias de acciones tromboplásticas y por la acción de la antitrombosina presente. Para Nolf al efectuarse el coágulo se consume totalmente la trombozima en los peces é incompletamente en los mamíferos. El trombógeno persiste en el suero aunque en menor cantidad que en el plasma. Compara, Nolf, la coagulación sanguínea á una ecuación química en que el resultado se hace á expensas del primer miembro de la ecuación. Se podía representar la ecuación en los peces donde la cantidad de fibrinógeno, trombozima, y trombógeno son más ó menos equivalentes del siguiente modo:

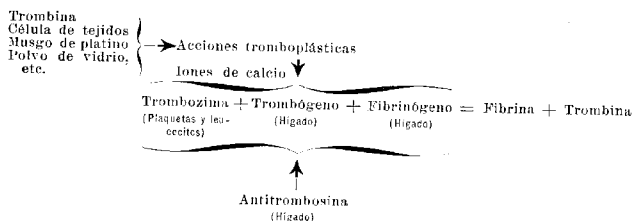


En los mamíferos donde existe una mayor cantidad de trombozima y de trombógeno se forma un elemento más: la trombina.



La fibrina sería la unión de cantidades equivalentes de los tres primeros factores, en cambio la trombina sería la unión de cantidades más ó menos nuevas de trombozima y trombógeno y muy poco fibrinógeno ó hablando con Nolf la trombina es una fibrina no saturada de fibrinógeno. Se basa especialmente este concepto en que, en las coagulaciones sucesivas la cantidad de trombina hallada es superior á la obtenida del coágulo anterior. Si se trata el plasma oxalado humano por cantidades débiles de suero fresco se obtiene coagulaciones incompletas y sin ninguna tendencia á completarse. Observa Howell, que la coagulación se detiene al poco rato si se coloca trombina pura en presencia de fibrinógeno puro. Van T'Hoff, estudiando la acción del calor en los fenómenos físicos y químicos, concluye que actúa modificando más los fenómenos químicos que los físicos, las observaciones de Mellamby y Rettger parecen hablar en contra de la acción química del fibrinógeno sobre la trombina porque las temperaturas de 17° á 52° tiene poca influencia sobre la acción probable de la trombina y del fibrinógeno. La trombozima y el trombógeno pueden unirse por su cuenta en un complejo coloidal, sin la presencia del fibrinógeno puro. Este complejo coloidal favorece por su presencia

la formación del coágulo. Los iones de calcio, para Nolf, son necesarios aunque no indispensables, como activantes de los coloides poco estables. Podríamos representar de una manera esquemática el concepto de Nolf en los mamíferos del siguiente modo:



En oposición á los conceptos de Nolf, Howell, conviene citar á Foá que en un estudio hecho en 1912 trata de asentar sobre base más sólidas la teoría emitida por Fuld, Spiro y Morawitz; llega hasta dar leyes que rigen este fenómeno. «El tiempo total de la coagulación es inversamente proporcional á la concentración de la trombina». Se representa por la siguiente relación  $FT = K$ :

F representa la concentración del fermento y T el tiempo. El valor de K tiende á crecer si la cantidad de fermento es todavía más baja. Duclaux, Arthus, Martin, Mellamby, Rettger y Loeb han llegado con anterioridad de Foá, á las mismas conclusiones.

«La velocidad de acción del fermento, llamando A la cantidad de substancia á transformar en un tiempo T es directamente proporcional á la concentración del fermento  $A = KF$ ».

Otras reacciones como la pepsina sigue la ley de Schütz-Borisow en que  $A = K_1 \sqrt{F}$ .

Fuld en cambio encuentra para el plasma y el extracto muscular de oca, lo siguiente:  $\text{Log. } I_0 = 0,585 \text{ Log. } X = \text{Log. } I$ .

X equivale la cantidad de fermento que determina la coagulación tiempo I.

$X_0$  es la cantidad de fermento correspondiente al tiempo  $I_0$  tomado como unidad.

Foá obtiene haciendo diluciones del fibrinógeno, que la coagulación se hace tanto más lentamente cuanto menor es la concentración del fibrinógeno; esta conclusión no está de acuerdo con las leyes de Van T'Hoff y de Duclaux. Foá trabajando con el procedimiento de Fuld, usado por este autor en la coagulación de la leche, encuentra que la velocidad de transformación del fibrinógeno es uniforme y puede ser representada por  $\frac{da}{dt} = K$ .

$a$  es la cantidad de fibrinógeno transformado.

De esta primer relación se deduce que  $a = Kt$ . Que significa que el valor fermentativo es proporcional al tiempo.

Siendo  $ft = K$  y  $a = Kt$ : se podrá hallar la relación  $\frac{a}{t} = \text{constante } f$  ó  $\frac{a}{ft} = \text{constante}$ . En la cual el poder fermento en un tiempo determinado, es proporcional á la cantidad de fermento.

Con esto piensa Foá que la trombina tiene propiedades de enzima, que no sigue la ley de Schütz-Borisow.

Estudios últimos han tratado de estudiar la composi-

ción química de la citozima, hablando en el lenguaje de Bordet y Delange.

Emil Tak extrae los lipoides de un plasma oxalatado, tratando por el éter de petróleo ó precipitándolo por alcaloides y anota que en esta forma la coagulación es más lenta, comparada con el líquido de control, á pesar de recalcificarlos previamente á ambos.

A. Sordelli hace las siguientes experiencias:

Plasma oxalatado, según la técnica descrita de Bordet y Delange, más solución de cloruro de calcio al 1 %; en la relación de 10 c. c. de plasma por 1,2 c. c. de la solución de calcio: coagula á los 8 minutos.

Plasma oxalatado al que se trata por éter sulfúrico por repetidas veces, para disolver los lipoides, á este plasma sin el éter se trata por cloruro de calcio en las mismas proporciones que en el ensayo anterior. No coagula en dos horas de observación.

Al plasma tratado por el éter, según la experiencia anterior, agrega una citozima y la misma solución de calcio: coagula en 15 minutos.

Al plasma tratado por el éter y luego eliminado el éter y el residuo se agrega al plasma de la segunda experiencia: no coagula en dos horas.

Al plasma tratado por el éter se agrega una emulsión de plaquetas y la solución de calcio: coagula en tres minutos.

Al plasma tratado por el éter, se agrega el residuo

obtenido por el éter y la solución de calcio: coagula en 20 minutos.

Al plasma tratado por el éter, se agrega el residuo obtenido por el éter, citozima, y la solución de calcio: coagula en 3 minutos.

Bordet y Delange, toman una emulsión de plaquetas lavadas y la tratan por 25 volúmenes de alcohol etílico, luego centrifuga, evapora el alcohol y redisuelve el residuo en 5 volúmenes de alcohol etílico y este líquido actúa como una citozima enérgica. El alcohol etílico extrae igualmente la citozima del músculo del conejo. Esta citozima es soluble en alcohol absoluto, cloroforno, esencia de petróleo, pero muy poco soluble en la acetona. Si se toma tres partes iguales de músculo y se deja macerar durante 5 días, una parte en alcohol absoluto; otra por el toluol y la tercera por la acetona. se observa que el toluol no tiene ninguna acción de citozima, el extracto alcohólico la tiene en alto grado y el extracto de acetona la acción de citozima es apenas evidente. Esto se explica por que el toluol extrae igualmente las substancias anticoagulantes. Tratado por el agua, un músculo muy dividido, se obtiene igualmente substancias anticoagulantes, pero si se agrega acetona, ésta extrae la citozima, soluble luego en el toluol. Con el extracto seco del músculo tratado por el agua la acetona no disuelve sino muy poca citozima. De esta serie de experiencias se puede deducir que la citozima es un lipóide y probablemente una lecitina.

Howell no cree indispensable la acción de la citozima en la formación del coágulo sanguíneo, solo actúa neutralizando en el complejo protrombina-antitrombina, existente normalmente en la sangre, la antitrombina y dejando actuar á la protrombina sobre el fibrinógeno. La protrombina de Howell no es más que el trombógeno de Nolf y la serozima de Bordet y Delange.

A esta acción de la citozima le llama Howell, acción trombolástica. La acción de la citozima se debe, según Howell, á un lipoide fosforado parecido á las lecitinas, cuyas solubilidades coinciden con el grupo de las kefalinas ó cefalinas. Se basa este concepto en que el agregado de sustancias trombolásticas á la sangre de peptona; ésta no coagula. No se puede explicar el fenómeno, como que la sustancia empleada contenía calcio, que en presencia de la serozima del plasma peptonado diera trombina; porque las cenizas de grandes cantidades de cefalinas, tratadas por el ácido clorhídrico diluído no precipita en presencia de! oxalato de amonio. El agua destilada destruye el complejo de protrombina-antitrombina. Es interesante conocer la acción mutua entre la serozima y la citozima.

Hemos notado que una concentración equivalente de ambos elementos, dejando cierto tiempo que actúe un elemento sobre el otro, entonces sus acciones parecen inhibirse y solo aparecen cuando existe un exceso de cualquiera de estos elementos.

El siguiente experimento parece confirmar lo antedicho.

Serozima de oveja	+	Citozima corazón de vaca 1/10	+	Cl <sup>2</sup> Ca solución 5 %	+	Suero fisiológico	Fibrino de oveja 1/10	
0.4 cc.	+	0.1 cc.	+	0.1 cc.	+	0.2 cc.	1 cc.	≡ 5'
0.3 "	+	"	+	"	+	"	"	≡ 5'
0.2 "	+	"	+	"	+	"	"	≡ 5'
0.1 "	+	"	+	"	+	"	"	≡ No
0.4 "	+	0.1 cc. citozima soluc. 1/20	+	"	+	"	"	≡ 8'
0.3 "	+	"	+	"	+	"	"	≡ 6'
0.2 "	+	"	+	"	+	"	"	≡ 6'
0.2 "	+	"	+	"	+	"	"	≡ No

Reposo durante 15' a temperatura ambiente a 25°

Observación de una hora y 30 minutos.

La serozima y la citozima se ha preparado según la técnica de Bordet y Delange y se ha dejado en contacto durante 20 minutos, luego se agregó el cloruro de calcio, el suero fisiológico y se dejó 15 minutos en reposo á una temperatura menor de 20° se agregó el plasma reoxalata-do y diluído en tres volúmenes suero fisiológico como se indica en la parte técnica de nuestro trabajo.

Este hecho de las inhibiciones en soluciones concentradas habían sido ya anotadas por A. Sordelli y nosotros sólo indicamos el grado de concentración para impedir la formación del coágulo. En las soluciones de serozima no se hace apreciable esta inhibición pero soluciones de serozima al 1 yor 10 ya no actúan, por lo menos la de oveja. Conviene continuar este estudio para determinar más claramente las acciones existentes entre la serozima y la citozima.

El fibrinógeno debe colocarse entre las globulinas, in-

soluble en agua destilada, soluble en soluciones débiles de sales neutras y precipitado del plasma por diálisis.

La temperatura á la cual se coagula en los medios pobres en sal es á 56°; en una solución al 8 ó 10 % de cloruro de sodio coagula á 52° ó 55°; según Hammarsten y Fredericq. Hemos estudiado con detalles la acción del calor sobre el fibrinógeno en los diversos líquidos que lo contienen, lo que hizo pensar á Hayem que hubiera muchas clases de fibrinógenos.

El fibrinógeno precipita en soluciones concentradas de cloruro de sodio hecho que se halla en pugna con las propiedades de las demás globulinas.

El fibrinógeno contiene más C, H y O que la fibrina, el análisis elemental hecho por Hammarsten da el siguiente resultado: C 52, 93 %; H 6, 9 %; N 16, 6 %; O 22, 26 %; S 1, 25 %.

Schwalbe demuestra que el fibrinógeno no pasa á través de las bujías de Chamberlan como las demás albúminas del plasma. Bajo la acción de la trombina se transforma en fibrina; siendo según Hammarsten la única substancia madre de la fibrina.

Para Prevost y Dumas, Herpúis y Mosso el fibrinógeno nace de la destrucción de los hematíes; en el plasma circulante no habría fibrinógeno y solo para Heynsses un 9 por ciento se halla libre en el plasma.

Landois, llamó «Estroma fibrina» un núcleo proteído, extraído de los glóbulos rojos nucleados, parece ser de diferente constitución á la hallada por Mosso.

Se ha querido dar como fuente de fibrinógeno, los leucocitos, las plaquetas y para Wooldridge la célula de los tejidos lo que no es difícil de probar desde Müller; es la existencia del fibrinógeno, por lo menos en su mayor parte, en el plasma circulante; los hechos que abonan en favor de su existencia es que los transudados, pobres en elementos figurados, son soluciones casi puras de fibrinógeno y en el plasma florurado, que conserva perfectamente las plaquetas, leucocitos, etc., contiene grandes cantidades de fibrinógeno.

Para Schmidt, el fibrinógeno tiene su origen en la citoglobina pero esto no ha podido ser demostrado.

En la intoxicación fosforada han demostrado Corin y Hansiux, Iakoby y Loeb, falta el fibrinógeno, lo que conserva la fluidez de la sangre, pero no hay que olvidar que en estos casos falta la serozima.

Doyon demostró que el fibrinógeno se halla igualmente ausente en la sangre de los intoxicados por el cloroformo. Todas estas experiencias hacen pensar que el hígado juega un rol importante en su génesis.

Iakoby objeta, que en las intoxicaciones existe un fermento fibrinolítico que podría producir la destrucción del fibrinógeno circulante.

Mathews repitiendo las experiencias de Dastre; que la inyección endovenosa repetida, de sangre defibrinada de un perro, no contiene, después de repetir varias veces esta prueba nada de fibrinógeno. Pero á las 48 horas, se ha regenerado; extrayendo todo el tractus intestinal el fibri-

nógeno no se produce: pensó Mathews que el intestino es el principal productor del fibrinógeno. Experiencias posteriores, hechos extirpando el tractus intestinal de las ranas no comprueba la observación de Mathews. Falk, creyó demostrar hace tiempo, que la sangre capilar de los cadáveres no tiene fibrinógeno.

En estos últimos tiempos, ha llamado la atención el paralelismo entre la cantidad de leucocitos y de fibrinógeno hallado por el procedimiento de Reye, especialmente en la neumonía.

En las enfermedades que se acompañan de una leucopenia, la cantidad de fibrinógeno disminuye.

La inyección de suero fisiológico que aumenta el número de leucocitos, aumenta igualmente la cantidad de fibrinógeno.

Müller, deduce de sus experiencias que la médula ósea y los ganglios linfáticos, sean lugares de origen del fibrinógeno.

Bajo qué forma el fibrinógeno se precipita en fibrina? No ha sido todavía completamente dilucidada; así la primitiva teoría de Schmidt de las síntesis con las sustancias fibrinoplásticas; la sal cálcica del fibrinógeno supuestos por Arthus y Pekelharing, nadie cree en ellos después de los trabajos de Hammarsten.

Para Hammarsten el fibrinógeno se transforma por acción hidrolítica en suero-globulina por un lado y en fibrina por otro. Esta suero-globulina fué encontrada por Hammarsten en soluciones puras de fibrinógeno y la

asignó propiedades parecidas, solamente que la suero-globulina se precipita en soluciones más diluidas y la temperatura de su coágulo oscila entre 65° y 66°; más tarde Hammarsten modificó su opinión y pensó que la suero-globulina no es más que la fibrina soluble.

Otro fenómeno interesante y no aclarado todavía, es la causa de la retracción del coágulo. Se creyó primero que fuera debido á la misma elasticidad de la red de fibrina. A este concepto se oponen los hechos que la falta de elementos celulares no da tendencia al coágulo á retraerse; lo mismo pasa al plasma de aves coagulados con extractos de tejido.

La intervención de los elementos celulares es necesaria; pero actuando químicamente ó mecánicamente? Nolf piensa que en los plasmas donde la concentración de fibrinógeno y serozima es grande, la retracción del coágulo es mayor.

Weil obtiene en algunos sujetos, de la sangre venosa una retracción normal en cambio de la sangre recogida por punción del dedo; no hay retracción.

Todos estos hechos no han sido bien estudiados y dejamos á que nuevas investigaciones den la clave de tan interesante fenómeno.

Dado que para la coagulación sanguínea interviene una cantidad de factores, ya estudiados, es fácil predecir que cualquier agente inhibidor de alguno de estos factores es suficiente para impedir el coágulo.

Se conoce la acción de las soluciones concentradas im-

pidiendo actuar, probablemente, la trombina sobre el fibrinógeno.

La precipitación de las sales de calcio por el oxalato de sodio como el impedir la ionización del calcio por soluciones de citrato de sodio.

Entre las demás substancias, se las puede dividir en aquellos cuya acción anticoagulante se hace manifiesta una vez que haya pasado el organismo vivo y cuyo tipo es la intoxicación por peptona; y la otra, cuya acción se hace igualmente manifiesta *in vitro*, y el tipo es el veneno de cobra.

---



## TÉCNICA

### TIEMPO DE LA COAGULACIÓN DE LA SANGRE

Los clínicos y los experimentadores han tratado de determinar, con la mayor exactitud posible, el tiempo que tarda en coagularse la sangre recién extraída de los vasos. Se ha ideado, para llenar esta indicación, una cantidad tal de procedimientos, que van indicando la dificultad de determinar este instante.

Los métodos pueden dividirse; en aquellos que determinan el tiempo del coágulo de la sangre extraída directamente de la vena, y los otros métodos trabajan sólo con la sangre obtenida por punción del pulpejo del dedo.

Desde ya nos inclinamos á favor de los procedimientos que obtiene la sangre por punción directa de la vena, porque con el segundo método la sangre ha tenido tiempo de ponerse en contacto con diferentes tejidos, antes de salir al exterior, y por lo tanto, de impregnarse de subs-

tancias que disminuyen considerablemente el tiempo de coagulación.

Addis observa que se debe fijar un primer momento de la aparición de las cantidades más pequeñas de fibrina y el segundo instante es aquel en que el coágulo es completo.

Las condiciones previas que se requieren, cualquiera sea el procedimiento elegido, son las siguientes: 1.º, limpieza de la piel; 2.º, menor contacto posible de la sangre con los tejidos; 3.º, obtenerlo siempre con los mismos procedimientos, temperatura y demás condiciones físicas capaces de alterar el tiempo del coágulo, y 4.º, según W. B. Canon y W. L. Mendelhall debía dar una indicación perfectamente objetiva hecha por la misma sangre.

Uno de los primeros procedimientos y de los más sencillos es el de Vierordt.

Vierordt emplea un tubito capilar de 1 milímetro de diámetro y 5 centímetros de largo, previa punción del pulpejo del dedo se aspira una columna de medio centímetro de altura. Se introduce en el extremo opuesto al que estuvo en contacto con el dedo, una crin de caballo, previamente hervida en alcohol y éter, perfectamente limpia, de 10 centímetros de largo y no muy gruesa. Se trata de no tocar con los dedos el extremo de la crin que se pondrá en contacto con la sangre y se llega así hasta el extremo del tubo. Este momento se anota. Cada medio minuto se extrae del extremo que está en contacto con la sangre medio centímetro de crin. Los primeros centíme-

tros la crin es blanca, pero luego cuando la coagulación se verifica la crin aparece de color rosado; producido el coágulo completamente, la crin recobra su color blanco ó se adhiere á ella el coágulo. Se anota este instante.

Sahli, en su clínica, hace un nudo en el extremo de la crin antes de introducirlo en la sangre; de este modo, cuando la coagulación se ha hecho se sigue extrayendo la crin de modo tal que el nudo se ponga en contacto con la columna de sangre y obtener así todo el coágulo completo. Vierordt encuentra, que el término medio del tiempo de coagulación en los hombres normales, es de 9 minutos 28 segundos.

El error de este procedimiento consiste especialmente en no tener en cuenta la temperatura ambiente; Kottmann y Lidsky modifican el procedimiento usando un recipiente con agua á temperatura deseada y dentro de ellas un tubo con el aparato de Vierordt. El tiempo que hallan estos autores en la sangre humana es, a 15° C; 11 minutos y á 20° C; 6 minutos.

Wright propone una serie de tubos capilares iguales, los llena con sangre fresca, los mantiene á temperatura de 18° C ó 37° C; sopla cada medio minuto uno de estos tubos. Al principio era suficiente anotar el tiempo que se observaba al soplar, la sangre coagulada; actualmente prefiere soplar la sangre sobre papel secante y observar el coágulo. Wright, calcula alrededor de 5 minutos el tiempo que tarda la sangre de un individuo normal, en coagularse.

Schultz, usa un tubo de vidrio en el que se ha hecho doce ampollas esféricas, separadas entre sí por intervalo pequeño en que el diámetro del tubo es capilar, los tallos terminales son cortos.

Se hace entrar la sangre hasta llenar todas las ampollas; se le seca la punta con la cual se ha obtenido la sangre y se coloca sobre un soporte de manera que el aparato esté horizontal; esto se hace, para evitar el reflujo de la sangre de una ampolla á la otra. Por otro lado se prepara 12 á 24 vidrios de reloj á la que se ha agregado un centímetro cúbico de solución fisiológica. En períodos de tiempo medido se rompen las ampollas y se recoge el contenido sobre la solución fisiológica. Observado el coágulo se anota el tiempo. Según este autor, la sangre venosa, tarda en coagularse de 11 á 15 minutos y en la sangre recogida por punción del pulpejo del dedo es 2 á 5 minutos.

El error de los métodos de Wright y de Schultz, consisten en que los tubos son difíciles de calibrar; agregándose á este último procedimiento el no tener en cuenta la temperatura en la que se verifica la reacción.

Milian deja caer gotas de sangre sobre porta-objetos previamente limpios y cada tanto tiempo coloca verticalmente uno de estos porta-objetos, observando el perfil de la gota. Cuando la sangre es líquida la mayor cantidad de ella se coloca, siguiendo la fuerza de la gravedad, entonces toma la forma de una lágrima; en cambio, cuando

la sangre se ha coagulado conserva su forma de media esfera.

Himman y Sladen modifican este procedimiento del siguiente modo: después de limpiados con alcohol una cantidad de porta-objetos, hecha la incisión en el lóbulo de la oreja y eliminada la primer gota; las gotas subsiguientes no caen sobre el porta-objeto sino que puesto horizontal el lóbulo, se toca ligeramente la gota de sangre, de manera de obtener gotas de 4 á 6 milímetros de diámetro. Se vuelve rápidamente el porta-objeto y se la coloca en una escala; luego cada cuarto ó medio minuto, se pone vertical el porta-objeto y se mira á la luz, entonces se observan que: en los porta-objetos en que la sangre no está coagulada el punto de mayor opacidad se halla en el extremo inferior de la gota; en cambio, cuando la sangre se ha coagulado la mayor opacidad se encuentra en el centro de la gota.

Las gotas de menor ó mayor tamaño á las indicadas más arriba, se desechan. Rusell y Brodin aconsejan que la reacción se haga á temperatura de 15° á 20°.

El tiempo se anota desde el instante de la incisión del lóbulo de la oreja hasta el momento en que se observa el coágulo. A la temperatura indicada, el tiempo de coagulación es alrededor de 7 á 8 minutos en un sujeto normal. La principal causa de error es la desecación.

Hayem propone un simple cilindro de vidrio, usando siempre el mismo en todos los casos, de base plana que llena con varios centímetros cúbicos de sangre, luego

inclina suavemente el tubo cada medio minuto, por ejemplo, hasta obtener el instante en que la sangre mantiene su forma á pesar de las diferentes posiciones del tubo. Este procedimiento está sujeto á errores, entre ellos se encuentra la temperatura que no se tiene en cuenta y la dificultad de determinar el momento preciso en que se inicia el coágulo; pero, es sumamente práctico y nosotros lo usamos en nuestras experiencias.

Bürker, pone una gota de agua en la cavidad de un porta-objeto pulido, este porta-objeto se halla colocado en un baño-maría á temperatura constante de 25° y después de esperar á que la gota haya tomado la temperatura deseada se agrega una gota de sangre. Por otro lado se estira á la lámpara una varilla de vidrio de 18 centímetros de largo, cuya punta tiene dos á tres milímetros de diámetro perfectamente limpio. Después de medio minuto se da una vuelta de 90° á un disco de que está provisto el aparato y ocluye la excavación; levantada esta tapa, con la varilla de vidrio se describen 5 vueltas de espiral, de la perifería al centro y se observa el extremo de la varilla, después de cerrar el aparato; esta operación se repite cada medio minuto hasta obtener un primer hilo de fibrina. Este momento se anota. El aparato es fabricado por el mecánico Albrecht de Tübingen. Sahli cree que lo único criticable es la adición del agua.

Brodin y Russell colocan una gota de sangre y dirijen una corriente de aire tangencialmente á ella y, se observa al microscopio, los glóbulos rojos á la más pequeña co-

rriente de aire cambian de lugar, pero luego todo movimiento cesa á pesar de persistir la corriente de aire; el inconveniente existe, por las diferencias del volumen de la gota y en la intensidad de la corriente. Para Pratt el tiempo de coagulación en un sujeto normal es de 4 á 5 minutos; para Morphy y Gould es de tres minutos y doce segundos; para Brodin y Russell de 7 á 8 minutos; por último para Himman y Sladen 6 minutos 40 segundos á temperatura de 20° C.

Morawitz y Vierich puncionan una vena y cargan una jeringa de 10 c. c. de capacidad, por otra parte preparan 2 vasos del mismo tamaño y forma colocados previamente en una cámara húmeda de 20°. En cada vaso coloca 5 c. c. de sangre y cada dos minutos examina; si nota un ligero sedimento rojo en las paredes del vidrio da por iniciada la coagulación y se termina cuando la sangre no sigue la inclinación de los vasos. El tiempo que da Morawitz en el sujeto normal oscila de 15 á 20 minutos, una diferencia hasta 20 por ciento se puede desechar y solamente un porcentaje mayor se debe tomar en cuenta.

Buckmaster, prepara un ansa de platino y una cámara húmeda á temperatura constante. Toma en el ansa de platino una gota de sangre y puesta en la cámara húmeda observa al microscopio que mientras la sangre no está coagulada los glóbulos rojos se desprenden del ansa y caen, en cambio cuando la sangre esta coagulada los hematíes ya no bajan.

Buckmaster obtiene los siguientes tiempos de coagula-

ción: á 20° C, 8 minutos y 45 segundos; á 39° C, 2 minutos y 36 segundos. Según Morawitz, las ventajas de este procedimiento consisten en la sencillez, en la pequeña cantidad de sangre, en que el contacto de la sangre con los elementos extraños quedan reducidos al mínimo y por último el momento del coágulo se determina de una manera fácil, segura y exacta.

Kottmann, idea lo que llama un coágulo-viscosímetro. El principio que rige es el siguiente: si se hace girar un envase lleno de líquido, las capas vecinas á la pared toman la misma velocidad de rotación de la pared, dependiendo de la viscosidad que la velocidad de rotación se propague á las demás capas. Una pala sumergida en el líquido, no movible directamente, se moverá con una rapidez que depende de la velocidad de rotación del recipiente y de la viscosidad del líquido. La sangre al coagularse se hace mucho más viscosa, momento, que la pala marcará con un aumento notable de su velocidad. El aparato de Kottmann consta de un gran recipiente y dentro de éste; otro, entre ambos circula una cantidad de agua que tiene por objeto de mantener la sangre á una temperatura constante. En el centro del segundo envase, gira gracias á un aparato de relojería, con una velocidad que se puede determinar; en el centro un vástago de metal en que toma como eje, la pala sumergida en el líquido y cuyas vueltas marca el vástago en su extremo superior.

El aparato lo construye Schaerer, de Berna.

El procedimiento descripto por W. B. Cannon y

W. L. Mendenhall consta de un pequeño peso (30 miligramos) que se hunde dentro del pequeño recipiente que contiene la sangre. El peso unido á un largo brazo que sirve como aparato inscriptor. Si la sangre líquida, la pesa llega al fondo del vaso y queda marcado por el brazo inscriptor, sobre el papel ahumado en forma de una elevación brusca; vuelve rápidamente á su posición normal, gracias á la acción de un resorte. A medida que la sangre se va coagulando opone mayor resistencia al peso, luego el ascenso, que marca la palanca no es tan alto, y por último, cuando la sangre está completamente coagulada, el peso no puede romper la fibrina formada, y la palanca inscriptora queda inmóvil, lo que se marca en el papel ahumado por un punto. La operación de colocar la pesa dentro del líquido se hace cada medio minuto, luego el error no es mayor que este tiempo. La cantidad de sangre que se usa es muy pequeña; la temperatura constante; reuniendo este aparato excelentes condiciones para determinar el momento del coágulo.

Existen procedimientos basados en obtener la cantidad mínima de substancia capaz de detener la coagulación; otros, en cambio, se basan sobre la presencia de sales de calcio.

Chantemesse idea un procedimiento que consiste en saber la cantidad mínima de ácido oxálico necesaria, para impedir el coágulo. Toma Chantemesse un volumen de sangre, y agrega un volumen de varias concentraciones del ácido oxálico, y observa á los 2 ó 3 días el tubo

de ensayo en que la coagulación no se ha producido; la solución mínima se anota. Las soluciones usadas son al 1/400, 1/600, 1/800, 1/1000, 1/1200, 1/1500. Normalmente es suficiente una solución al 1/800.

Brissaud toma 5 c. c. de una solución de cloruro de sodio al 20 ‰, agrega 15 c. c. de sangre del enfermo obtenida por punción venosa. Centrifugada esta mezcla, el plasma se recoge en varios tubos de ensayos, á razón de 0,5 c. c. del plasma salado en cada tubo, luego se agrega en esa serie de tubos cantidades crecientes de agua destilada. Así: al primer tubo se agrega 1 c. c. de agua destilada; al segundo tubo 1,5 c. c. de agua destilada y así se continúa. Por otro lado se aprovecha la punción venosa recogiendo sangre en tres tubos iguales y viendo así el tiempo que tarda la sangre en coagularse, inclinándolo de vez en cuando el tubo. Las concentraciones del cloruro de sodio en los diferentes tubos de ensayo y el tiempo normal en que tarda coagularse después de agregar el agua destilada, es la siguiente:

1.º t.	0,5 cc. de plasma salado	+ 1	cc. de agua dest.	corresponde á 1,65 ‰	queda incoag.
2.º t.	" " " "	+ 1,5	" " " "	" 1,25 "	coagula en 33'
3.º t.	" " " "	+ 2	" " " "	" 1 "	" " 34'
4.º t.	" " " "	+ 3	" " " "	" 0,79 "	" " 35'
5.º t.	" " " "	+ 4	" " " "	" 0,55 "	" " 43'
6.º t.	" " " "	+ 5	" " " "	" 0,45 "	" " 54'

Las objeciones que se pueden hacer á este procedimiento son serias:

1.ª A la concentración de cloruro de sodio empleado, en nuestras manos, á pesar de los múltiples cuidados, siempre se ha producido la hemolisis y la hemoglobina,

es una substancia que acelera el tiempo del coágulo.

2.<sup>a</sup> Las cantidades crecientes del líquido, hacen que el volumen total de cada ensayo, sea diferente, y no pueda compararse los resultados entre sí, porque las condiciones de la ionización del calcio en esta forma es muy variable.

3.<sup>a</sup> Las variaciones de los resultados en los sujetos normales es la misma que se observa en los enfermos; aun en la neumonía los resultados son muy variables, como puede verse comparando, por ejemplo, las observaciones XIV y LX de Brissaud; las concentraciones salinas en donde la coagulación puede verificarse, se encuentra en ambas como máximo el 1,25 % y el mínimo 0,45 %. El tiempo mínimo que tardó en coagularse era de una hora diez minutos en el primer caso y de 35 minutos en el segundo y ambos mueren: á los dos días la observación XIV y al otro día la observación LX. Brissaud, como nosotros, no llega á ninguna conclusión práctica.

4.<sup>a</sup> La interpretación teórica es difícil.

5.<sup>a</sup> La cantidad de sangre es muy grande.

Marcel Bloch, toma 1 c. c. de sangre que recoge de una vena, con un jeringa cargada con la siguiente solución: 4 c. c. de suero fisiológico y 0,01 c. c. de citrato de sodio. Una vez bien mezclado toma 0,2 c. c. de esta mezcla y agrega una serie de tubos de ensayo á los que añade cantidades crecientes de una solución al 0,5 %<sub>100</sub> de cloruro de calcio; y así agrega al primer tubo 1 c. c.,

2 c. c., etc. Observa el primer tubo donde comienza el coágulo y el tubo donde la coagulación es completa.

El índice de M. Bloch se hace poniendo como denominador la cantidad de citrato de sodio y numerador la cantidad de sales del calcio: el índice mínimo normalmente es uno, y el máximo normalmente es dos. Las objeciones que encontramos son las que está bajo el número 2 de las hechas á Brissaud.

Nosotros en el Servicio del Dr. F. Canevari, usábamos el siguiente procedimiento. En tubo de ensayo, graduado y parafinado se coloca 1 c. c. de una solución de oxalato de sodio al 10  $\frac{0}{100}$  y 4  $\frac{0}{100}$  de cloruro de sodio; dejaba caer la sangre de la punción venosa hasta completar 10 c. c. de líquido, teniendo cuidado de mover el tubo á medida que llega la sangre. Se centrifuga, y el plasma oxalitado así obtenido límpido, se coloca 0,5 c. c. en cada tubo de ensayo de 30 milímetros de ancho y 90 milímetros de alto. A esto se agrega 0,1 c. c. de cloruro de calcio de concentraciones variadas; al 100  $\frac{0}{10}$ ; 10  $\frac{0}{10}$ ; 1  $\frac{0}{10}$ ; 1/10; 1/100; 1/1000; 1/10000; etc. Los tubos controles se hacen con 0,1 c. c. de agua destilado agregado á 0,5 c. c. de plasma oxalitado y al otro tubo control 0,6 c. c. de plasma. Todo esto se lleva á la estufa á 37° durante 15 minutos y se observa el tubo en donde la concentración máxima ha impedido formar el coágulo, el tubo de concentración inferior se anota. Lo mismo se hace para aquello en que la concentración es tan débil que es insuficiente el calcio contenido para formar el coágulo. Este procedi-

miento, superior á los anteriores, á pesar del corto número de muestras investigaciones, tiene el inconveniente que no se conoce la cantidad de calcio necesaria para saturar el oxalato de sodio libre, por otro lado no se conoce la forma de actuar las sales de calcio y por último la incoagulabilidad de la sangre, puede deberse á otros factores que no sea el calcio.

DETERMINACIÓN CUANTITATIVA Y CUALITATIVA  
DE LOS FACTORES QUE INTERVIENEN EN LA COAGULACIÓN  
DE LA SANGRE

*Trombina (fibrin-fermento).* — Método en serie de Wohlgemuth.

Soluciones necesarias:

1.<sup>o</sup> Fibrin-fermento. 2.<sup>o</sup> Solución de fibrinógeno.

La solución de fibrinógeno se prepara siguiendo el procedimiento de Schmidt. Esta solución de fibrinógeno se diluye á su vez al décimo, con una solución á 1  $\frac{0}{10}$  de cloruro de sodio. Toma Wohlgemuth una serie de tubos; 10, por ejemplo, y agrega un tubo control. En estos tubos coloca soluciones decrecientes de la trombina ó substancia cuya acción de fibrin-fermento se ha demostrado por un ensayo previo; el primer tubo contiene 1 c. c. de la substancia ó su solución, el segundo tubo 0,5 c. c.; el tercer tubo 0,25 c. c., etc. El tubo control no tiene trombina. Las soluciones se hacen siempre con cloruro de sodio al 1  $\frac{0}{10}$ . A cada tubo agrégase 1 c. c. de la solución

mencionada y 2 c. c. de la solución de fibrinógeno diluido al décimo; se mezcla bien y se coloca 24 horas á la estufa. Después se examinan los tubos incliniéndolos horizontalmente y observando si se ha formado un coágulo completo, casi completo, parcial, pequeño rastro que va representando desde 4 cruces hasta por una cruz. Cuando no hay coágulo el signo negativo es la representación gráfica de ello.

Toma en cuenta Wohlgenuth la más pequeña cantidad de fermento que es capaz de formar un coágulo y que corresponde á lo que marca por una cruz. Suponiendo que el tubo 9 contiene 0,004 c. c., la relación se determina colocando como numerador la unidad y denominador la cantidad hallada, en el caso particular tendríamos  $\frac{1}{0,004} = 250$ . Wohlgenuth encuentra las siguientes cifras: hombre 62,5 — 250; perro, 125 — 250; conejo, 31,5 — 125.

Nosotros, en nuestras experiencias, seguimos el siguiente procedimiento; 1.º, solución de trombina; 2.º, solución de fibrinógeno. Como tal actúa una solución de plasma reoxalitado, según Bordet y Delange (preferimos el plasma de oveja).

Tomamos una serie de tubos de ensayo; en el primero colocamos 0,5 c. c. de febrin-fermento y vamos disminuyendo hasta colocar 0,1 c. c. en el quinto tubo, luego vamos haciendo soluciones al 1 % al 1 %<sub>100</sub>, etc. Al tubo control no se le agrega trombina. A todos los tubos se agrega 1 c. c. del plasma reoxalitado y diluido al tercio en solución

fisiológica. Se observa de medio en medio minuto hasta obtener la coagulación. Se anota este instante al mismo tiempo que la temperatura del ambiente.

*Fibrinógeno.*— Denis emplea una solución saturada de cloruro de sodio. En esta forma tiene una solución compleja, que llama plasmina; diluída en agua no tarda en coagularse. No sirve como procedimiento de aislar el fibrinógeno.

A Schmidt obtiene plasma á 0°, varias veces filtrado; agrega 10 volúmenes de agua helada, luego, hace pasar una corriente anhídrido-carbónico y así precipita una substancia que parece ser el fibrinógeno.

Hammarsten recibe 3 volúmenes de sangre en un volumen de una solución saturada de sulfato de magnesia, se abandona al reposo durante varios días, á baja temperatura, se decanta, se filtra, se agrega igual volumen de solución saturada de cloruro de sodio. Al poco tiempo nada en la superficie un precipitado mucilaginoso, poco adherente á las paredes, finamente fibrilar que luego se agrupan en masa, se hace filamentososa, tiende aglutinarse y se saca del líquido de una sola vez.

Esta substancia, es fibrinógeno, soluble en el agua gracias á las sales que lleva consigo.

Para purificarlo se le vuelve precipitar en solución saturada de cloruro de sodio, esta operación se repite varias veces hasta obtener una masa viscosa adherente á las paredes.

El fibrinógeno de Hammarsten es soluble en soluciones al 5 á 8 % de cloruro de sodio y precipita de ellos á 56° queda insoluble conservando, su estructura histológica. El agua oxigenada es descompuesta por el fibrinógeno.

Al microscopio se presenta formada por una red muy fina, cubierta por granulaciones grisáceas debido probablemente, á la interposición de otras sustancias.

El método de Reye se basa en que una solución neutra de sulfato de amonio precipita más fácilmente al fibrinógeno que á la trombina; usa las siguientes soluciones:

1.<sup>a</sup> Solución de floruro de sodio al 3 %.

2.<sup>a</sup> Solución saturada de sulfato de amonio neutro; densidad á 19° = 1,245.

3.<sup>a</sup> 16 c. c. de la solución anterior á la que se agrega 42 c. c. de agua destilada. Se toman 4 c. c. de la solución de floruro de sodio, se agrega 16 c. c. de sangre; se centrifuga, recogidos 12 c. c. de plasma límpido se agrega 30 c. c. de la solución de sulfato de amonio neutro. Una vez precipitado se filtra sobre un filtro tarado, se lava el precipitado con la solución número 3, se coloca una hora á 80° y se lava sobre el filtro con agua destilada caliente y luego con alcohol y éter; se deseca á la estufa y se pesa. Reye, obtiene 0,042 -- 0,0424 grs. de fibrinógeno en 12 c.c. de plasma de buey.

Forges y Spiro usa una solución saturada en caliente de sulfato de sodio. Se prepara, dejando á 33° en el agua, sulfato de sodio completamente puro, que no tiene rastro de amoníaco. Forges y Spiro obtienen un plasma fluorado

en las mismas condiciones que en el procedimiento de Reye. A 15 c. c. de este plasma agrega 45 c. c. de agua.

En 5 c. c. de esta solución del plasma, se determina el azoe, según el método de Kjendahl; el resto se coloca en un frasco de boca ancha herméticamente cerrada y se calienta á 30° C. Se agrega 14 c. c. de la solución de sulfato de sodio. Precipitado el fibrinógeno, se filtra y en 5 á 10 c. c. del filtrado se determina, la cantidad de ázoe que contiene, teniéndose en cuenta, el agregado de la solución de sulfato de sodio. La diferencia de ambos dosajes de ázoe será la cantidad de fibrinógeno.

Wohlgemuth, obtiene la solución de fibrinógeno siguiendo á Schmidt, es decir agrega á 3 partes de sangre fresca, una parte de sulfato de magnesia al 28 % se centrifuga bien y se obtiene el plasma.

Actúa como trombina un suero recién obtenido y diluído al quinto, por último tiene á mano una solución de cloruro de sodio al 1 %.

En varios tubos, agrega cantidades decrecientes de solución de fibrinógeno á investigar; estas soluciones se hacen con cloruro de sodio al 1 %. Agrégase á cada tubo 1 c. c. del fibrin-fermento diluído al quinto; se mezcla bien, se coloca á la estufa á 37° durante 24 horas y se examina inclinando horizontalmente el tubo de ensayo; se anota el coágulo siguiéndose la nomenclatura usada por este autor.

Wohlgemuth, obtiene los siguientes resultados: humano, 62,5—250; perro, 62,5—250; conejo, 16—625.

En nuestros ensayos usamos una trombina cuyo grado

de solución de citozima, serozima y sales de calcio son conocidas.

La substancia que actúa como fibrinógeno es reoxalada y diluída luego en suero fisiológico, al grado que descamos. Después, de esperar 15 minutos á temperatura ambiente, para tener tiempo de formarse la trombina; agregamos 1 c. c. del líquido que contiene fibrinógeno. Cada medio minuto inclinamos el tubo de ensayo y anotamos el momento de la aparición del coágulo. Conviene conocer la temperatura del laboratorio.

*Serozima* (trombógeno, ó protrombina).— Wohlgemuth toma dos series de tubo de ensayo, cargándose ambas con las substancias cuyo poder trombógeno se quiere estudiar; colócase en los dos tubos de igual colocación en cada serie; igual cantidad de suero. A cada vaso, de la serie principal se va agregando soluciones decrecientes de tromboquinasa, de poder conocido; á la serie control se agrega el mismo volumen de suero fisiológico. A ambas series se agrega 2 c. c., del plasma magnesiada de Schmidt, se deja en la estufa 24 horas; al cabo de los cuales se observá y se compara el grado de coagulación en ambas series. Si la serie principal contiene trombógeno, la coagulación se hará en mayor número de tubos, que en la serie control. Nosotros para medir el poder de la serozima, aislamos esta substancia por el procedimiento de Bordet y Delange.

Hacemos con la serozima las diluciones queridas; toma-

mos 0.5 c. c., agregamos á cada tubo 0.1 c. c. de una solución de citozima de poder conocido, agregamos 1 c. c. de una solución en suero fisiológico de cloruro de calcio al 5  $\frac{0}{1000}$ ; se deja á la temperatura ambiente durante 15 minutos y luego se agrega 1 c. c. del plasma reoxalatado y diluido al tercio. Los tubos se inclinan cada medio minuto y se anota el tiempo que ha necesitado el sistema en coagularse. Conviene tener en cuenta la temperatura de laboratorio.

*Citozima* (substancias zimo-plásticas, trombo-plásticas; tromboquinasa, trombosina).—Estas substancias aunque son diferentes en su constitución íntima se estudiarán en conjunto; porque todas tienen la propiedad de acelerar la formación del coágulo.

Loeb, toma fibrinógeno, suero fresco y á otro sistema agrega soluciones de la substancia que tiene acción de citozima, se observa la facilidad con que se produce el coágulo.

Wohlgemuth, después de determinar la cantidad mínima de suero, para coagular á una cantidad dada de fibrinógeno; agrega á esta última cantidad de suero hallada, cantidad decreciente de trombo-quinasa; agregada que es el fibrinógeno, en la misma dosis que se ha usado en el ensayo previo; colocado en la estufa durante 24 horas. Se tiene en cuenta el tubo de ensayo en la que se ha hallado el coágulo mínimo.

En nuestras experiencias, para determinar el poder

citozímico, de una substancia, tomamos soluciones decrecientes de ella y agregamos en cada tubo de experiencia 0,5 c. c. de serozina y 1 c. c. de la solución de cloruro de calcio al 5  $\frac{0}{1000}$ ; se deja reposar la mezcla durante 15 minutos y luego se agrega 1 c. c. de plasma reoxalitado diluido al tercio; y se observa de medio en medio minuto el tiempo en que se produce el coágulo. Se anota este instante. Se debe tomar en cuenta la temperatura de laboratorio.

PROCEDIMIENTOS PARA AISLAR LAS SUBSTANCIAS  
QUE INTERVIENEN EN LA COAGULACIÓN DE LA SANGRE

*Trombina.*—Para obtener una buena trombina es suficiente defibrinar la sangre por batido y luego centrifugarla. El suero debe usarse fresco porque su poder se pierde rápidamente.

Schmidt, agrega al suero sanguíneo 15 á 20 volúmenes de alcohol concentrado. Deja reposar durante 4 semanas; filtra; deseca en el vacío sobre ácido sulfúrico y obtiene un polvo que diluido en suero fisiológico; es capaz de coagular rápidamente á soluciones de fibrinógeno.

Hammarsten, satura el suero previamente calentado á 30° C, con sulfato de magnesia; filtra, deja enfriar el filtrado y una vez depositado los cristales de sulfato de magnesia; separa el suero, lo diluye en 9 volúmenes de agua, agregándose soda hasta formar un precipitado de magnesia. Lavado y prensado que es el precipitado, se

disuelve agregando una solución muy diluída de ácido hasta obtener reacción débilmente ácida ó neutra. Una vez dializado se obtiene una solución con todas las propiedades de la trombina de Schmidt.

Howell, extrae fibrina fresca, bien lavado y secada á la estufa, con cloruro de sodio al 8  $\%$ . El extracto, se filtra, se mezcla con medio volumen de cloroformo; filtra de nuevo y vuelve agregar cloroformo; se filtra por segunda vez. Esta operación se repite varias veces hasta obtener un líquido límpido. La trombina se precipita por soluciones de sulfato de magnesia. Para conservar el poder de la trombina, se guarda en pequeñas porciones en la campana con ácido sulfúrico á temperatura de 38° á 40°; cuando se va trabajar se diluye en suero-fisiológico.

Schmidt propone reactivar la meta-trombina agregando al suero igual volumen de legía de soda décimo normal; dejarla en contacto durante un cuarto ó media hora y agrega luego la misma cantidad de solución décima normal, de ácido sulfúrico. Se consigue mejor resultado, si se dializa con anterioridad y agrega 0,1 c. c., décimo normal de hidrato sodio por c. c. de suero.

*Antitrombina.*—Dikenson, prepara como tal una suspensión de hirudinas. Las cabezas de sanguijuelas se pulverizan en un mortero y extrayéndolo luego con agua. Es suficiente un milígramo de esta suspensión para conservar líquido 5 c. c. de sangre. Actúa tanto en vivo como in-vitro.

Inyectando peptona Witte ó extracto de músculo de cangrejo ó tejidos de animales que ocupan un lugar muy inferior en la escala zoológica; la sangre de ciertos animales se hace incoagulable. No se puede trabajar con cobayos ni con conejos.

M. Doyon, A. Morel y A. Policard, consiguen una anti-trombina, haciendo pasar una solución débilmente alcalina á través de un hígado de perro, lavado, congelado y descongelado. Se congela por la acción de la nieve carbónica. La solución empleada consta de 4 grs. de cloruro de sodio, 5 grs. de carbonato de sodio y 1000 grs. de agua. La presión del líquido á través del hígado es de 30 c. c. de agua; se recoge 500 grs. de líquido que hayan pasado 12 veces la glándula en una hora y media. El líquido obtenido, es calentado durante 5 minutos; centrifúgase el coágulo formado. El líquido que sobrenada contiene substancia anticoagulantes. Esta antitrombina es precipitada por el ácido acético y redisuelta en medio alcalino; tiene todas las propiedades de la antitrombina, que estos mismos autores obtienen, haciendo pasar soluciones de peptona á través de hígado fresco ó congelado del perro.

L. Goard, consigue un jugo hepato-pancrático de los crustáceos, que dice tener una acción de anti-trombina, pero todavía no está demostrado.

*Citozima.*—Morawitz, recomienda obtener la tromboquinasa, del tímo, hígados y ganglios linfáticos; el músculo se debe dialisar previamente, durante 10 á 20 horas, para eliminar las substancias anti-coagulantes que parece con-

tener. Desmenuando finamente estos órganos, se añade el mismo volumen de suero fisiológico, se agita durante media hora y se lleva á la estufa durante varias horas, se filtra y se trababaja sobre el filtrado. Bordet prefiere las soluciones alcohólicas.

Merck, prepara una citozima, empleando como tal el extracto alcohólico de corazón de cobayo diluídos en suero fisiológico. En esta forma se expende al público. A. Sordelli y G. Fischer han obtenido una citozima de poca acción con los extractos alcohólicos del cobayo y han reemplazado ventajosamente por el extracto alcohólico de corazón de vaca.

El método que sigue A. Sordelli y G. Fischer es el siguiente: se toma un trozo de corazón de vaca, exclusivamente la parte muscular; se hace pasar por estos aparatos ordinarios de cocina que sirven para moler carne, se agrega ocho volúmenes de alcohol etílico á 96 grados por cada gramo de músculo cardíaco; se lleva á la estufa á 60° durante dos horas se deja enfriar y se decanta. El líquido así obtenido se guarda en frascos oscuros y á temperatura ambiente. A. Sordelli y G. Fischer prefieren dejar al alcohol con el músculo cardíaco. Se puede substituir con ventaja al corazón, el hígado y el timo.

Schmidt, para obtener las sustancias zimoplásticas, precipita al plasma oxalatoado por una solución concentrada de cloruro de sodio; después de dializado y filtrado se añade ácido acético diluído hasta reacción débilmente ácida. El precipitado se centrifuga y lava con agua. Esta

substancia se disuelve en soluciones débiles de cloruro de sodio, soda cáustica, ácido clorhídrico á 1  $\frac{0}{100}$  y tiene la propiedad de transformar la serozima en trombina. Por otro lado basta agregar al plasma oxalatado dos volúmenes de agua; unas gotas de solución de ácido acético; centrifugar el precipitado y disolver en pequeñas cantidades de solución de hidrato de soda o de amoníaco y así obtener una substancia que en presencia de las sales de calcio se transforma en una trombina muy activa.

*Serozima.*—Bordet, partiendo del plasma oxalatado toma de ella, 10 c. c. de cloruro de calcio solución al 1  $\frac{0}{10}$ . Se coloca á la estufa á 37° durante durante 15 ó 20 minutos; se exprime el coágulo formado y se deja al suero en la estufa á 37° durante una hora y media; en esta forma se destruye todos los demás elementos que contiene el plasma. Conviene dejar en contacto con las soluciones queridas durante una hora; antes de usarla.

*Plasmas.*—El plasma de los animales invertebrados, se consigue por medio de una incisión en el cuerpo especialmente en el abdomen; se mezcla una parte de agua en 4 partes de sangre; se filtra varias veces y el filtrado se guarda en lugar fresco.

El plasma de mamíferos especialmente del caballo se recoge en vasos enfríados á 0°; preferible que sean parafinados; se filtran varias veces ó se deja reposar hasta que se deposite por sí mismo los elementos celulares y

pueda este plasma mantenerse en temperatura ambiente sin coagular. Wohlgemuth, divide la obtención del plasma por sales neutras en dos grandes grupos: 1.º, aquellos que no detienen la formación de trombina: cloruro de sodio, sales biliares y sulfato de magnesia; 2.º, formado por aquellas sales que impiden la formación de trombina: fluoruro de sodio; oxalato de sodio, de potasio, amonio y el citrato de sodio.

Plasma con cloruro de sodio: Bordet y Gengou mezclan una parte de la solución de cloruro de sodio al 20  $\frac{0}{100}$  y 3 partes de sangre; al mezclarlo se hace agitándolo fuertemente. Se centrifuga.

Plasma con sulfato de magnesia: Schmidt, toma tres partes de sangre fresca y agrega una parte de sulfato de magnesia al 28  $\frac{0}{100}$ . Se centrifuga.

Plasma con ácidos biliares: Se toma cinco partes de sangre por una de bilis. Se centrifuga.

Todos estos plasmas para coagularlos es suficiente diluirlos.

Plasma con fluoruro de sodio: Se hace una solución de fluoruro de sodio al 2  $\frac{0}{100}$  y se toma 1 c. c. de esta solución y se agrega 9 c. c. de sangre fresca. En esta forma se consigue un plasma que contiene 2  $\frac{0}{100}$  de fluoruro de sodio.

Plasma con oxalato de sodio: Arthus y Pagés toman una solución al 1 ó 2  $\frac{0}{100}$  de oxalato de sodio y agregan 9 partes de sangre. Se centrifuga.

Bordet, toma una parte de la siguiente solución: 10  $\frac{0}{1000}$  de oxalato de sodio y 4  $\frac{0}{1000}$  de cloruro de sodio; se agrega

á ello 9 partes de sangre fresca, Se centrifuga. El plasma reoxalatado se prepara agregando al plasma oxalatado igual volumen de la solución ya mencionada.

Plasma con citrato de sodio: Se toma una parte de citrato de sodio al 4 % y 9 partes de sangre. Se centrifuga.

Todos estos plasmas necesitan para coagularse, la presencia de iones de calcio.

Soluciones de fibrinógeno: Sirven como tales el transudado del pericardio del caballo; los demás transudados y exudados no son puros porque contienen pequeñas cantidades de trombina.

Sirven como solución de fibrinógeno, los plasmas ya estudiados así como las soluciones puras de fibrinógeno preparado por Hammarsten.

## ESPECIFICIDAD DE LOS ELEMENTOS QUE ENTRAN EN LA COAGULACIÓN SANGUINEA

Loeb cree que la tromboquinasa es específica por lo menos en los vertebrados superiores, y sus experiencias parecen comprobadas por los trabajos de Muraschew. La trombina parece también específica, según Duclaux y Loeb.

Bordet y Gengou, Fuld, no están en un todo de acuerdo con las observaciones anteriormente anotadas.

Para Nolf, la acción de su trombosima es específica, actúan solo como tal los leucocitos y plaquetas de la misma especie, y no pudo obtener coagulaciones actuando como trombosima, el extracto de vegetales, ni el de vertebrados.

Este último concepto de Nolf es inexacto; por que trabaja con extractos acuosos, en donde la solución de lipoides es muy pobre.

Me lleva á negar la especificidad absoluta, el hecho

que, en la reacción de Klinger y Hirschfeld, estos autores, usaron como citozima el extracto alcohólico de corazón de cobayo ó de vaca; actuando sobre la serozima y el fibrinógeno de oveja.

Bordet y Delange reemplazaron los extractos alcohólicos de animales, por la lecitina Agfa del comercio, y que actúa como una citozima.

Klinger é Hirschfeld toman bacterias y las hace actuar como citozima; halla para los ácidos resistentes un pequeño poder de citozima, pero, si se hace digerir previamente en suero de diversas especies de animales, adquieren poder de citozima.

Klinger é Hirschfeld van más lejos y usan solo substancias orgánicas como la colestearina y el oleato de sodio en suspensión acuosa.

En nuestras experiencias hemos dispuestos los elementos como en la reacción de Klinger é Hirschfeld; hemos usado salvo en los casos que anotaremos, la citozima, serozima, fibrinógeno preparados en la forma que indicamos, en la parte técnica.

T.	Gil. Hígado de varias especies de peces	Serozima de oveja Sol. 1:5	Sol. 5 cc. de Cl <sup>+</sup> Ca en 100 cc. de suero fisiológico	Plasma reoxalatado de oveja 1:13
1	0,1 cc.	+ 0,5 cc.	+ 1 cc.	1 cc. coagula 1'
2	" " Sol. 1/10	+ " "	+ " "	" " " 1' 45"
3	" " " 1/100	+ " "	+ " "	" " " 2' 15"
4	" " " 1/1000	+ " "	+ " "	" " " 4'
5	" " " 1/10000	+ " "	+ " "	" " " 1 h. 30'
6	" " " 1/100000	+ " "	+ " "	" " " incoagulable
7	Demás soluciones quedaron incoagulables.			
8	0,1 cc. Sol. 1/1000	+ " "	+ 1 cc.	" "
9	" "	+ 0,5 cc.	+ " "	" "

Reposo durante 12' a temperatura ambiente

Observación de dos horas y diez minutos

T.	Cit. Huevos de varias especies de pecas	+	Serozima de oveja Sol. 1/5	+	Sol. 5 % de Cl <sup>2</sup> Ca.	Plasma reoxalorado de oveja 1/13
1	0,1 cc.	+	0,5 cc.	+	1 cc.	1 cc. coagula 30"
2	0,1 " Sol. 1/10	+	"	+	"	" " 1' 30"
3	" " 1/100	+	"	+	"	" " 6'
4	" " 1/1000	+	"	+	"	" " 1 h.30"
5	" " 1/10000	+	"	+	"	" incoagulable
6	Los demás tubos han quedado incoagulables					
7	0,1 cc. Sol. 1/1000	+	"	+	1 cc.	" "
8	-----	+	0,5 cc.	+	"	" "

Reposo a temperatura inferior de 25°

Observación de dos horas y diez minutos

T.	Cit. Alc. de caracol	+	Sero. de oveja 1/5	+	Sol. 5 % de cloruro de calcio	Plasma reoxalorado de oveja 1/13
1	0,1 cc.	+	0,5 cc.	+	1 cc.	1 cc. coagula en 2'
2	0,1 " Sol. 1/10	+	"	+	"	" coágulo incompleto en 45'
3	" " 1/100	+	"	+	"	" incoagulable
4	Demás soluciones han quedado incoagulable					
5	0,1 cc.	+	"	+	1 cc.	" "
6	-----	+	0,5 cc.	+	"	" "

Reposo a temperatura inferior a 25°

Observación de dos horas y treinta minutos

Esta citozima de caracol fué preparado del siguiente modo: se tomó el caracol, eliminando la caparazón; se colocó en un mortero reduciéndose á una papilla; se agregó alcohol etílico á 96° por cada gramo de caracol, 8 volúmenes de alcohol. Se llevó á la estufa durante dos horas á 60°. Se usó en tiempos diferentes con el mismo poder.

La abreviación Sol., significa solución de Cl<sup>2</sup> Ca al 5 ‰, hecha con suero fisiológico.

La abreviación Cit., significa citozima alcohólica.

La abreviación Sero., significa serozima.

En otras series de investigaciones usamos como citozima de caracol, lo siguiente: 5 cc. de extracto alcohólico de caracol, se evapora á la estufa á 37° durante 24 ho-

ras y el sedimento se suspendió en 5 cc. de suero fisiológico.

T.	Suspensión en suero fisiológico del caracol	+	Sero. de oveja 1/5	+	Solución de Cl <sup>2</sup> Ca		Plasma reoxalitado de oveja 1/15	
1	0,5 cc.	+	0,5 cc.	+	1 cc.	Reposo durante 15' a temperatura inferior a 25°	1 cc. coagula 5'	
2	0,4 "	+	"	+	"		" " 7'	
3	0,3 "	+	"	+	"		" " 12'	
4	0,2 "	+	"	+	"		" " 30'	
5	0,1 "	+	"	+	"		" incoagulable	
6	Las soluciones inf. quedaron incoagulables.							
7	0,2 cc.	+	"	+	1 cc.		" "	
8	-----	+	0,5 cc.	+	"		" "	

Observación de cuatro horas

Con estas experiencias, se nota que a pesar de la diferente posición dentro de la escala animal, entre los peces y el caracol por un lado y la oveja por el otro, los extractos alcohólicos de los primeros actúan como una citozima solo comparable al extracto alcohólico del corazón de vaca.

T.	Cit. Humana	+	Sero. humana 1/5	+	Sol. Cl <sup>2</sup> Ca		Plasma reoxalitado humano 1/15
1	0,1 cc.	+	0,5 cc.	+	1 cc.	Reposo durante 15' a temperatura inferior a 25°	1 cc. coagula 6' 15"
2	0,1 " Sol. 1/10	+	"	+	"		" incoagulable
3	0,1 " Sol. más déb.	+	"	+	"		" "
4	0,1 "	+	"	+	"		" "
5	-----	+	"	+	"		" "

Observación de una hora treinta minutos

El plasma humana de la cual se sacó la serozima y fibrinógeno, era la mezcla de sangre de varios sujetos que presentaban como única afección clínica una uretritis blenorragica crónica.

La citozima humana de la experiencia anterior fué usada para las otras experiencias.

T.	Cit. Humana	+	Sero. de oveja 1/5	+	Sol. CP Ca	Plasma reoxalatado de oveja 1/15
1	0,1 cc.	+	0,5 cc.	+	1 cc.	1 cc. coagula 30"
2	0,1 " Sol. 1/10	+	"	+	"	" " 1'
3	0,1 " " 1/100	+	"	+	"	" " 1'30"
4	0,1 " " 1/1000	+	"	+	"	" " 5'
5	0,1 " " 1/100	+	"	+	"	" incoagulable
6	-----	+	"	+	"	" "

Observación de 50 minutos

El poder de la citozima humana, como se ve por la experiencia anotada, es bastante buena.

T.	Cit. Humana	+	Sero. de caballo 1/5	+	Sol. CP Ca	Plasma reoxalatado de oveja 1/13
1	0,1 cc.	+	0,5 cc.	+	1 cc.	1 cc. coagula 1'
2	" Sol. 1/10	+	"	+	"	" " 4'
3	" " 1/100	+	"	+	"	" " 20'
4	" Soluciones más débiles	+	"	+	"	" incoagulable
5	" Sol. 1/10	+	"	+	"	" "
6	-----	+	"	+	"	" "

Observación de una hora

T.	Cit. Humana	+	Sero. de caballo 1/5	+	Sol. CP Ca	Plasma reoxalatado de vaca 1/13
1	0,1 cc.	+	0,5 cc.	+	1 cc.	1 cc. coagula 2' 30"
2	" Sol. 1/10	+	"	+	"	" incoagulable
3	" Soluciones más débiles	+	"	+	"	" "
4	" " "	+	"	+	"	" "
5	" -----	+	"	+	"	" "

Observación de treinta y cinco minutos

Actúa como citozima, en todas estas experiencias, el extracto alcohólico del corazón humano.

T.	Cit. de corazón de mono	+	Sero. de oveja 1/5	+	Sol. CP Ca	Plasma reoxalatado de oveja 1/13
1	0,1 cc.	+	0,5 cc.	+	1 cc.	1 cc. coagula 1'
2	" Sol. 1/10	+	"	+	"	" " 1'30"
3	" " 1/100	+	"	+	"	" " 2'
4	" " 1/1000	+	"	+	"	" coágulo incompleto 4'
5	" " 1/10000	+	"	+	"	" coágulo incompleto 25'
6	" " 1/100000	+	"	+	"	" incoagulable
7	" " más déb.	+	"	+	"	" "
8	" " 1/100	+	"	+	"	" "
9	" -----	+	"	+	"	" "

Observación de cuarenta minutos

T.	Cit. de corazón de vaca	+	Sero. de oveja 1/5	+	Sol. CF Ca		Plasma reoxalado de oveja 1/13
1	0,1 cc.	+	0,5 cc.	+	1 cc.	Reposo durante 15' a temperatura inferior de 25°	1 cc. coagula 1'
2	" Sol. 1/10	+	"	+	"		" " 1'30"
3	" " 1/100	+	"	+	"		" " 2'
4	" " 1/1000	+	"	+	"		" " 8'30"
5	" " 1/10000	+	"	+	"		" " 40'
6	" " 1/100000	+	"	+	"		" " 40'2"
7	" " 1/1000000	+	"	+	"		" " 62'
8	" " 1'100	+	"	+	"		" incoagulable
9	" " —	+	"	+	"		" "

Observación de una hora y diez minutos

T.	Cit. de corazón de vaca	+	Sero. vaca 1,5	+	Sol. CF Ca		Plasma reoxal. de vaca 1/13
1	0,1 cc.	+	0,5 cc.	+	1 cc.	Reposo durante 15' a temperatura inferior de 25°	1 cc. coagula 1'
2	" Sol. 1/10	+	"	+	"		" " 6' 30"
3	" " 1/100	+	"	+	"		" " 8' 45"
4	" " 1/1000	+	"	+	"		" precipit. grueso á los 45"
5	" " 1/10000	+	"	+	"		" incoagulable
6	" " más débiles	+	"	+	"		" "
7	" " 1/100	+	"	+	"		" "
8	" " —	+	"	+	"		" "

Observación de dos horas treinta minutos

T.	Cit. Hígado de varias especies de peces	+	Sero. de oveja sin diluir	+	Sol. CF Ca		Plasma reoxal. de vaca 1/13
1	0,1 cc. Sol. 1/1000	+	0,1 cc.	+	1 cc.	Rep. 15' á temp. inf. á 25°	1 cc. coagula 12'
2	" " " "	+	"	+	"		" incoagulabl.
3	" " " "	+	0,1 cc.	+	"		" "

Observación de cincuenta y cinco minutos

De las experiencias descriptas, deducimos, que la afinidad específica de cada uno de los elementos que entran en la formación del coágulo, sino existe en absoluto es por lo menos muy pequeña; las variaciones que se observan débense más á condiciones individuales y del momento del ensayo, que á las modificaciones que pueda imprimir la especie. A. Sordelli y G. Fischer, dicen: «la

cantidad ó actividad de la serozima varía mucho de un animal á otro (se refiere á las ovejas) y en un mismo animal tampoco es constante». Traen estos autores una serie de experiencias que comprueban sus afirmaciones y, como se ve, se hallan de acuerdo con nuestro modo de pensar.

La trombina tampoco parece seguir las leyes de la especificidad. Se usó como trombina el suero de cobayo que había estado 48 horas en la heladera; luego su poder había disminuído considerablemente.

T.	Suero de cobayo	+	Plasma reoxalitado y diluido de oveja 1/1,5	
1	0,7 cc.	+	1 cc.	Coaguló
2	0,6 "	+	"	"
3	0,5 "	+	"	"
4	0,4 "	+	"	"
5	0,3 "	+	"	"
6	0,2 "	+	"	"
7	0,1 "	+	"	Incoagulable
8	0,05 "	+	"	"
9	0,025 "	+	"	"

Observación de veinte y cuatro horas

No se pudo determinar el momento preciso del coágulo porque después de observado cuatro horas consecutivas y no viendo ningún coágulo, se dejó el ensayo á la temperatura de laboratorio y fué visto al otro día á la misma hora.

El suero de caballo obra como fibrinfermento en presencia del fibrinógeno de oveja, como puede verse al estudiar la acción de la Coagulasa Parke, David y Cía., que no es más que suero de caballo desecado; 0,5 cc. de esta Coagulasa coagula á 1 cc. de plasma reoxalitado y diluído de oveja en una hora y treinta minutos.

Hemos tratado de reemplazar el extracto orgánico, por una substancia cuya composición química fuera conocida y sencilla; elegimos el alcohol etílico á 96°.

T.	Alcohol etílico á 96°	Sero. de oveja 1/5	Sol. Cl <sup>o</sup> Ca	Plasma reoxalitado de oveja 1,1/3
1	0,6 cc.	0,5 cc.	1 cc.	1 cc.
2	0,5 "	"	"	"
3	0,4 "	"	"	"
4	0,3 "	"	"	"
5	0,2 "	"	"	"
6	0,1 "	"	"	"
7	0,05 "	"	"	"
8	0,025 "	"	"	"
9	0,2 "	"	"	"
10	"	"	"	"

a temperatura inferior de 20°  
Reposo durante 15'

Observación de una hora

La acción del alcohol etílico es variable según la serozima y el fibrinógeno empleado.

T.	Alcohol etílico á 96°	Sero. de caballo 1/5	Sol. Cl <sup>o</sup> Ca	Plasma reoxalitado de caballo 1,1/3
1	0,1 cc.	0,5 cc.	1 cc.	1 cc.
2	"	"	"	"
3	"	0,5 cc.	"	"

a temp. inf. á 20°  
Rep. 15'

Observación de dos horas

T.	Alcohol etílico á 96°	Sero. de caballo 1/5	Sol. Cl <sup>o</sup> Ca.	Plasma reoxalitado de oveja 1,1/3
1	0,1 cc.	0,5 cc.	1 cc.	1 cc.
2	"	"	"	"
3	"	0,5 cc.	"	"

a temp. inf. á 20°  
Rep. 15'

Observación de una hora

T.	Alcohol etílico á 96°	Sero. de caballo 1/5	Sol. Cl <sup>o</sup> Ca.	Plasma reoxalitado de vaca 1,1/3
1	0,1 cc.	0,5 cc.	1 cc.	1 cc.
2	"	"	"	"
3	"	0,5 cc.	"	"

a temp. inf. á 20°  
Rep. 15'

Observación de 40 minutos

T.	Alcohol etílico á 96°	+	Sero. de oveja 1/5	+	Sol. Cl <sup>2</sup> Ca.		Plasma reoxalado de vaca 1/13		
1	0,1 cc.	+	0,5 cc.	+	1 cc.	Inf. 8.20.	1 cc.	coagula	7'15"
2	"	+	—	+	"	"	"	inoagulable	
3	—	+	0,5 cc.	+	"	"	"	"	"

Observación de dos horas

T.	Alcohol etílico á 96°	+	Sero. humana 1/5	+	Sol. Cl <sup>2</sup> Ca.		Plasma reoxalado de oveja 1/13		
1	0,1 cc.	+	0,5 cc.	+	1 cc.	Inf. 8.20.	1 cc.	coagula	4'30"
2	"	+	—	+	"	"	"	inoagulable	
3	—	+	0,5 cc.	+	"	"	"	"	"

Observación de una hora y treinta minutos

Se objetó á estas experiencias que probablemente existía en la serozima, trombina que se activaría en presencia del alcohol; para contestar á ella se trató de reactivar la trombina por el procedimiento de Schmidt, y no pudimos obtenerla.

Se pensó que el alcohol etílico actuaría sobre alguna citozima inhibida por la acción de la serozima concentrada; para poner en claro el grado de verdad de este modo de pensar, hicimos lo siguiente: tratamos la serozima por el éter, después de extraer el éter se vuelve á agregar nueva cantidad de él; esta operación se repite durante cuatro veces y la serozima se diluyó al quinto como en las demás experiencias.

T.	Alcohol etílico á 36°	+	Sero. oveja agotado por el éter 1/5	+	Sol. Cl <sup>2</sup> Ca	+	Plasma reoxal. de oveja 1/13		
1	0,5	cc.	+	0,5	cc.	+	1 cc.	Reposo durante 15' á temperatura inferior de 25°	1 cc. precipit. grueso á los 35'
2	0,4	"	+	"	"	+	"	"	coagula en 5'
3	0,3	"	+	"	"	+	"	"	" " 3'
4	0,2	"	+	"	"	+	"	"	" " 4'
5	0,1	"	+	"	"	+	"	"	" " 8'
6	0,05	"	+	"	"	+	"	"	" " 30'
7	0,025	"	+	"	"	+	"	"	" " 35'?"
8	0,0125	"	+	"	"	+	"	"	incoagulable
9	—	"	+	—	"	+	"	"	"
10	—	"	+	—	"	+	"	"	"
11	0,2	"	+	—	"	+	"	"	"

Observación de dos horas

El alcohol metílico actúa como el alcohol etílico.

La glicerina no actúa como citozima á pesar de las diferentes cantidades que hemos usado y después de una observación de 24 horas.

Hemos estudiado otras substancias como el ácido acético, pero conclusiones definitivas no las podemos hacer por el momento.

T.	Alcohol metílico	+	Sero. oveja 1/5	+	Sol. Cl <sup>2</sup> Ca	+	Plasma reoxal. de oveja 1/13		
1	0,5	cc.	+	0,5	cc.	+	1 cc.	Reposo durante 15' á temperatura inf. de 25°	1 cc. precipit. grueso á los 7'
2	0,4	"	+	"	"	+	"	"	coagula en 6'
3	0,3	"	+	"	"	+	"	"	" " 4'
4	0,2	"	+	"	"	+	"	"	" " 6'
5	0,1	"	+	"	"	+	"	"	" " 11'?"
6	0,05	"	+	"	"	+	"	"	incoagulable
7	0,025	"	+	"	"	+	"	"	"
8	—	"	+	—	"	+	"	"	"
9	0,2	"	+	—	"	+	"	"	"

Observación de tres horas

El alcohol etílico actúa como citozima según se deduce de las siguientes experiencias:

T.

1	1 cc. Plasma oxalitado de oveja	.....	Incoagul.
2	" Plasma reoxalitado y diluido oveja 1 1/3	.....	"
3	" Plasma reoxalitado de oveja 1/1 3/4	+ 1 cc. Sol. Cl <sup>2</sup> Ca	.....
4	" Plasma reoxalitado de oveja 1 1/3	+ " " " + 0,1 cc. alcohol etílico á 96°	.....
5	" Plasma reoxalitado de oveja 1/1 3/4	+ 1 cc. alcohol etílico á 96°	.....
6	" Plasma oxalitado de oveja	+ " " " " " " " " " " " "	.....

Observación de veinte y cuatro horas

T.

1	1 cc. Plasma reoxalitado de vaca 1 1/3	.....	Sol.	Alc. et.
2	" Plasma reoxalitado de vaca 1/1 3/4	+ " " " " " " " " " " " "	+ 1 cc. Cl <sup>2</sup> Ca	+ á 96° 0,1 cc. incoagul.

Observación de diez horas

Creemos poder contestar á las dudas que pudiera abrigarse, con respecto á las impurezas del alcohol empleado; con las siguientes experiencias: se tomó 10 c. c. de alcohol á 96° y se evaporó, colocando durante 24 horas á la estufa á 37°; luego se recogió el residuo en 5 c. c. de suero fisiológico.

La cantidad de líquido empleada varió entre 0,7 c. c. y 0,1 c. c. y no se obtuvo el coágulo á pesar de 24 horas de observación.

Sirvió de control 5 c. c. de extracto alcohólico de corazón de vaca.

Las suspensión en suero fisiológico tenía un poder muy intenso como citozima.

Por otro lado se trabajó con alcohol etílico hallado en diferentes envases, en lugares distintos, marcas de fáabri-

cas diversas y no se halló diferencia notable en estas observaciones.

Vemos por las experiencias estudiadas más arriba, que la curva gráfica seguida por las cantidades de alcohol etílico como el metílico es parecida á la que se obtiene con la citozima de vaca. La cantidad máxima con que coagula el sistema, en menos tiempo, oscila alrededor de 0,3 c. c.; por encima y por debajo de esta cantidad el tiempo del coágulo aumenta, hasta agotarse rápidamente. Esta propiedad, corresponde á lo que Nolf llamó substancias de acciones tromboplásticas.

La experiencia que pasamos á describir trata de confirmar lo que hemos anotado más arriba. Se tomó 5 c. c. de extracto alcohólico de corazón de vaca se colocó á la estufa durante 24 horas y el residuo se recogió en 5 c. c. de suero fisiológico.

T.	Oil. de vaca suspendida en suero fisiológico	Seru. oveja 1/5	+	Sol. CFCa.	Plasma reoxalitado de oveja 1/1,5	
1	0,4 cc.	+	0,5 cc.	+	1 cc.	1 cc. Incoagulable
2	0,3 "	+	"	+	"	" Coág. peq. 30'
3	0,2 "	+	"	+	"	" Coágulo 9'
4	0,1 "	+	"	+	"	" " 5'
5	0,1 " Sol. 1/2	+	"	+	"	" " 3'30"
6	0,1 " " 1/5	+	"	+	"	" " 1'
7	0,1 " " 1/10	+	"	+	"	" " 2'30"
8	0,1 " " 1/100	+	"	+	"	" " 6'30"
9	0,1 " " 1/500	+	"	+	"	" " 8'
10	0,1 " " 1/10	+	—	+	"	" Incoagulable
11	0,1 " " 1/10	+	—	+	"	" " "
12	0,1 " " —	+	0,5 cc.	+	1 cc.	" " "

Observación de dos horas

Hemos buscado si el cloruro de calcio era indispensable cuando el alcohol actúa como citozima; para esto

tomamos 10 c. c. de serozima de oveja y agregamos 0,6 c. c. de la solución de oxalato de sodio ( $10 \frac{0}{100}$  de oxalato de sodio,  $4 \frac{0}{100}$  cloruro de sodio); en esta forma hay un ligero exceso de oxalato. Sacamos 0,5 c. c. de esta mezcla para la experiencia principal y 0,5 c. c. para la experiencia control. Se agrega 1 c. c. de serozima diluida y 0,1 c. c. de la solución de oxalato de sodio. Así se sigue hasta terminar. Representamos con las letras S. S. O, las soluciones que hemos descripto.

T.	Alcohol á 95°	+	S. S. O. de oveja	+	Suero fisiológico	+	Plasma reoxalata-do de oveja	
1	0,2 cc.	+	0,5 cc. 1	+	1,5 cc.	+	1 cc.	Coagula 10'
2	"	+	" 2	+	"	+	"	" 10'
3	"	+	" 3	+	"	+	"	" 10'
4	"	+	" 4	+	"	+	"	" 10'
5	"	+	" 5	+	"	+	"	" 10'
6	Cit. de vaca							
7	1/100 0,1 cc.	+	" 1	+	"	+	"	Incoagulable
8	"	+	" 2	+	"	+	"	"
9	"	+	" 3	+	"	+	"	"
10	"	+	" 4	+	"	+	"	"
			" 5	+	"	+	"	"
					Sol. ClCa.			
11	"	+	Sero 1/5. sin oxalato	+	1 cc.	+	"	Coagula 3'
12	Alcohol á 95° 0,2 cc.	+	"	+	"	+	"	" 3'
					Suero fisiológico			
13	"	+	"	+	1,5 cc.	+	"	" 10'
14	"	+	"	+	"	+	"	Incoagulable
					Sol. ClCa.			
15	"	+	"	+	1 cc.	+	"	"
16	Cit. de vaca							
17	1/100 0,1 cc.	+	Sero 1/5 sin oxalato	+	"	+	"	"
18	"	+	"	+	"	+	"	"

Observación de dos horas

Por las experiencias que anotamos se puede ver, que

al pequeño exceso de oxalato de sodio no impide la acción del alcohol etílico á 96°. Pero el tiempo del coágulo se retarda.

T.	Alcohol etílico á 96°	+	Sero. de oveja 1/5	+	Sol. de oxalato de sodio	Plasma reoxalato de oveja 1/1/3		
1	0,2 cc.	+	0,5 cc.	+	0,1 cc. Sol. madre diluido al 1/100	1 cc.	coagula	10'
2	"	+	"	+	0,1 cc. Sol. madre diluido al 1/10	"	"	28'
3	"	+	"	+	0,1 cc. Sol. madre diluido al 1/5	"	"	1 h.
4	"	+	"	+	0,2 cc.	"	incoagulable	
5	"	+	"	+	Mayor cantidad	"	"	
6	"	+	"	+	—	"	"	
7	"	+	"	+	—	"	"	
8	"	+	"	+	—	"	coagula	10'
9	—	+	"	+	—	"	incoagulable	

Observación de dos horas

Lo que deducimos, dentro de las teorías de Fuld, Spiro y Morawitz, el alcohol actúa como una tromboquinasa, solo se diferencia de los extractos alcohólicos de órganos, en que el calcio que necesita los saca probablemente de los compuestos orgánicos no precipitables por el oxalato de sodio; la gran cantidad de oxalato detiene la reacción. La solución madre de oxalato de sodio empleada, es la común, 10 ‰ de oxalato de sodio y 4 ‰ de cloruro de sodio.

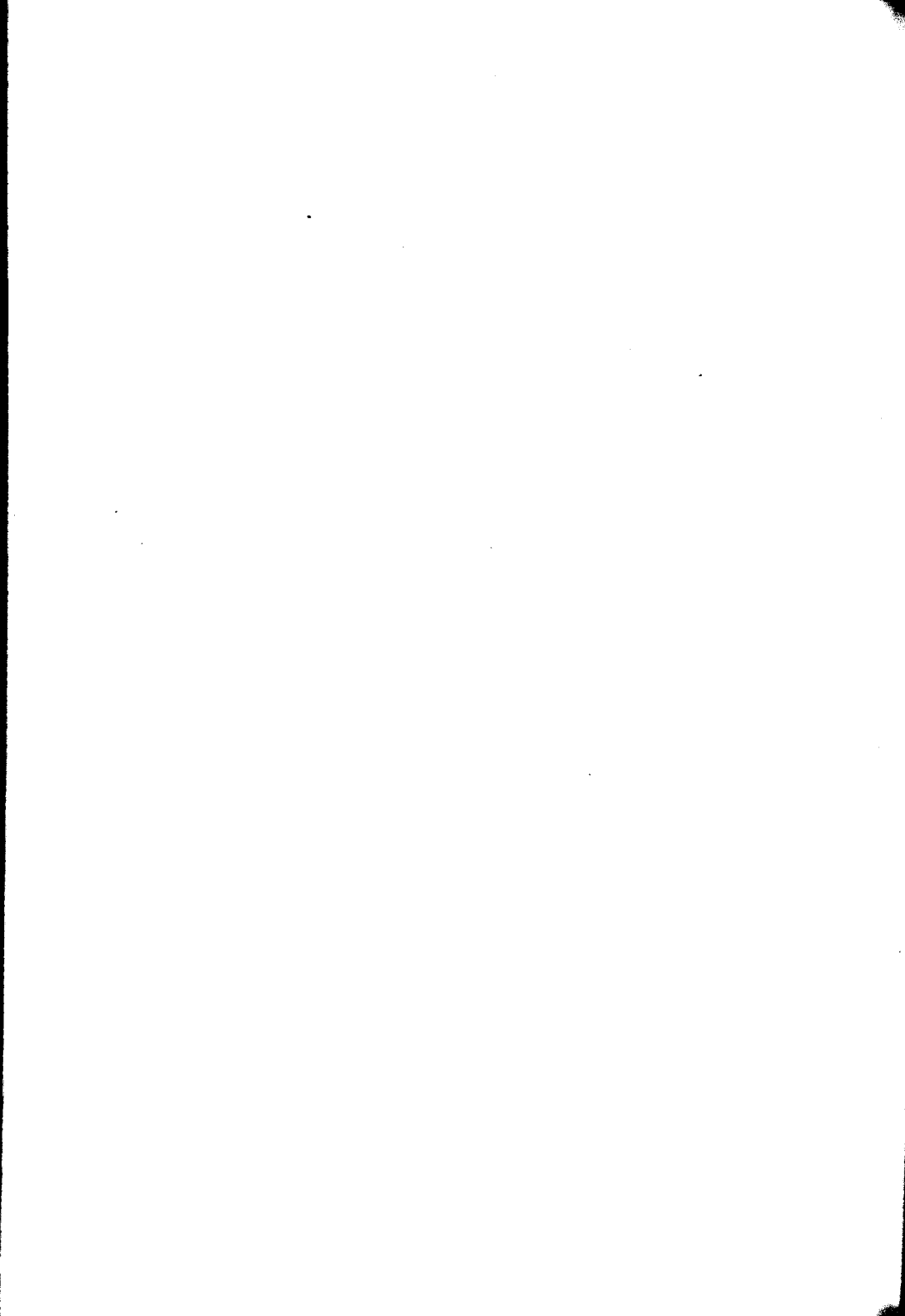
Según los conceptos de Howell, el alcohol tiene una acción tromboplástica, es decir neutraliza ó destruye la anti-trombina del complejo protrombina-antitrombina, dejando en libertad á la protrombina actuar sobre el fibrinógeno, para formar el coágulo.

La fibrina obtenida con alcohol, comparada con la nor-

mal de la oveja se comporta de igual manera en presencia del iodo y las soluciones de cloruro de sodio. Al microscopio la red de fibrina conseguida por intermedio del alcohol es más fina que la fibrina de la oveja.

No hay retracción del coágulo en las experiencias en que el alcohol actúa como citozima.

---



## REACCIÓN DEL KLINGER E. HIRSCHFELD

La técnica de esta reacción es sencilla y consiste en obtener 5 elementos: 1.º, la citozima; actúa como tal el extracto alcohólico de corazón de vaca y puede ser reemplazado por un antígeno. Se debe conocer el poder de dicha citozima lo que se hace según la técnica ya mencionada. 2.º, la serozima: esta substancia se prepara partiendo del plasma oxalatado. El plasma oxalatado se obtiene agregando á 10 c. c. de una solución de 10 ‰ de oxalato de sodio y 4 ‰ de cloruro de sodio; 90 c. c. de sangre de oveja ó cabra recogida por punción venosa de estos animales. El líquido así preparado se centrifuga dos ó tres veces hasta conseguirla incolora ó ligeramente amarilla.

Scagliamo, usa los envases parafinados; A. Sordelli y G. Fischer anotan que es suficiente ir mezclando la sangre á medida que cae en la solución de oxalato. A 10 c. c. del plasma oxalatado se agrega 1,2 c. c. de cloruro de calcio al 1 ‰, se deja 15 minutos á la estufa á 37°. Se

exprime el coágulo. El suero se vuelve colocar a la estufa durante una ó dos horas, luego se diluye al quinto en suero fisiológico y úsase una hora después de preparado. 3.º, hay que tener á mano una solución de cloruro de calcio al  $5 \frac{0}{1000}$ , hecha del modo siguiente: 5 c. c. de la solución de cloruro de calcio al 1  $\frac{0}{10}$  se agrega 100 c. c. de suero fisiológico. 4.º, el fibrinógeno: actúa como tal el plasma oxalatado á la que ha agregado un volumen de la solución de oxalato de sodio y 3 volúmenes de suero fisiológico. 5.º, el suero del enfermo inactivado, á 58° durante dos horas.

Para la reacción se coloca: 0,1 c. c. de suero del enfermo + 0,1 c. c. de la solución de citozima que corresponde; se deja en reposo, durante una hora á temperatura de laboratorio; luego, se agrega á cada tubo 0,5 c. c. de la solución de serozima al quinto, y 1 c. c. de la solución de cloruro de calcio; se deja 15 minutos en reposo á temperatura inferior de 25° y se agrega rápidamente 1 c. c. de la solución del plasma reoxalatado que actúa como fibrinógeno. Se observa el momento del coágulo inclinando cada cierto tiempo el tubo y anotando el momento en que se produce el coágulo. Se hace tres controles uno de citozima, otro del suero y otro de serozima.

Las soluciones de citozima usadas son al 1/40, 1/80, 1/160, 1/320. Se considera la reacción positiva cuando el coágulo se produce después de los 10 minutos.

T.	Suero del enfermo	Citozima	Sero. oveja 1/5	Sol. Cl <sup>2</sup> Ca	Plasma reoxalado	Resultado
1	0,1 cc.	0,1 cc. Sol. 1/40	0,5 cc.	1 cc.	1 cc.	no coag.   coag.
1 c.	"	"	"	"	"	c. en m. de 3'
2	"	"	"	"	"	no coag.   coag.
2 c.	"	"	"	"	"	c. en m. de 3'
3	"	"	"	"	"	no coag.   coag.
3 c.	"	"	"	"	"	c. en m. de 4'
4	"	"	"	"	"	no coag.   coag.
4 c.	"	"	"	"	"	c. en m. de 4'
5 c.	"	"	"	"	"	no coagula
6 c.	"	"	"	"	"	no coagula

Copiamos las observaciones hechas por nosotros el día 29 de Diciembre de 1916.

Citozima	Enfermo	Cama	17	Suero sanguíneo	Coaguló en	3'
coraz. de vaca	"	"	22	"	"	3'
Sol. 1/40	"	"	26	"	"	3'
"	"	"	25	"	No coaguló	
"	"	"	27	"	Coaguló en	13'
"	"	"	8.	Líquido céfalo-raquídeo	"	3'
"	"	"	26	pleural	"	3'
Control de Citozima	"	"	"	"	"	2'
"	"	"	"	"	Incoagulable	
"	"	"	"	"	"	"

Cit. corazón de vaca	Enfermo	Cama	17	Suero sanguíneo	Coaguló	6' 30"
Sol. 1/80	"	"	22	"	"	4' 30"
"	"	"	26	"	"	4'
"	"	"	25	"	No coaguló	
"	"	"	27	"	"	
"	"	"	8.	Líquido céfalo-raquídeo	Coaguló en	4'
"	"	"	26	pleural	"	4'
Control de citozima	"	"	"	"	"	2'

Cit. corazón de vaca	Enfermo	Cama	17	Suero sanguíneo	Coaguló	6' 30"
Sol. 1/160	"	"	22	"	"	6'
"	"	"	26	"	"	4' 30"
"	"	"	25	"	No coaguló	
"	"	"	27	"	"	
"	"	"	8.	Líquido céfalo-raquídeo	Coaguló en	5'
"	"	"	26	pleural	"	4' 30"
Control de citozima	"	"	"	"	"	3'

Cit. corazón de vaca	Enfermo cama 17	Suero sanguíneo	Coaguló en 7'
Sol. 1/320.	" "	" "	" " 6'
	" "	" "	" " 6'
	" "	" "	No coaguló
	" "	" "	" "
	" "	S. Líquido céfalo-raquídeo	Coaguló en 6'
	" "	" pleural	" " 6'
Control de citozima	" "	" "	" " 4'

Los enfermos pertenecen á la sala primera del Hospital Pirovano. Los enfermos que ocupan las camas 25 y 27 dan reacción de Klinger é Hirschfeld positiva que concuerda con las Wassermann y con los antecedentes clínicos. Además de los casos anotados tenemos 35 reacciones hechas en suero-sanguíneo de enfermos, sífilíticos y no sífilíticos y solamente dos casos; los enfermos 709 y 711 del consultorio externo de piel del mismo hospital, presentaban un chancro en el miembro, muy reciente y con ganglios poco marcados; la reacción de Klinger é Hirschfeld, fué positiva y la Wassermann, negativa.

Con el señor P. Coronel publicamos 20 observaciones de la reacción de Klinger é Hirschfeld de los cuales; la observación VI es una manifiesta heredo-sifilítica y la observación XIV, con un chancro típico ulcerado y adenopatía inguinal en que la reacción de Wasserman fué negativa y la Klinger é Hirschfeld positiva. En los demás casos concuerdan las dos reacciones. Fuera del suero-sanguíneo hicimos la reacción en un caso de líquido pleural; sala primera, cama 26; en el líquido articular observación XIX, de la publicación antes anotada. En ambas las dos reacciones estuvieron de acuerdo. Además hay dos observaciones; un líquido ascítico del enfermo

sala 1.<sup>a</sup>, cama 25, ambas reacciones fueron positivas. La observación XII, también líquido ascítico, la reacción de Klinger é Hirschfeld fué negativa y la de Wassermann, positiva; en el suero-sanguíneo de este mismo enfermo ambas reacciones dieron resultado negativo.

En el líquido céfalo-raquídeo, de 10 paralíticos generales, cedidos por el profesor Borda y el Dr. Rossi del Hospicio Nacional de Alienados; la reacción de Klinger é Hirschfeld resultó negativa y la Wassermann, francamente positiva. Dos observaciones nuestras hechas en líquido céfalo-raquídeo ambas reacciones estuvieron de acuerdo.

El Dr. Borzone, nos ha facilitado 133 observaciones, en las que encontramos 9 casos discordantes entre la reacción de Wassermann y las reacciones de Klinger é Hirschfeld. Tres de estas 9 observaciones eran sifilíticas con infección primaria de fecha reciente; uno, sifilítico antiguo intensamente tratado; en otras tres observaciones eran clínicamente sifilíticos y solo en dos casos se trató de un neoplasma de estómago y una litiasis biliar sin antecedentes luéticos. Las Wassermann, dudosas ó débilmente positivas fueron suprimidas de nuestras observaciones.

Sumando nuestras observaciones, con las publicadas por nosotros y P. Coronel con las cedidas por el Dr. Borzone, tenemos 193 casos y que solo 13 son discordantes con la Wassermann y que hacen un porcentaje de 6,73  $\frac{0}{10}$  de discordantes; lo que concuerda con los trabajos de

A. Sordelli y G. Fischer, que obtiene 6,7 % de discordantes. Encontramos entre los casos discordantes que 1,03 % corresponde á Wasserman, negativas y Klinger é Hirschfeld, positivas y que clínicamente no eran sífilíticos. El resto la constituyen sífilíticos comprobados con Wassermann, negativa y Klinger é Hirschfeld, positivas; de las cuales 3,11 % corresponde á su período inicial y el resto 2,59 % corresponde á otros períodos.

Como se puede deducir, la reacción de Klinger é Hirschfeld no tiene valor en los líquidos céfalo-raquídeos, por no hallarse en ellos la anticitozima. En los demás líquidos del organismo no se pueden sacar conclusiones porque la cantidad de reacciones fueron muy pocas.



## CONCLUSIONES

1.º La coagulación sanguínea es un fenómeno complejo, en que la última palabra no está dicha, pero, las teorías que actualmente están en boga, son las de Fuld, Spiro y Morawitz, Nolf y Howell.

2.º La especificidad de los elementos que entran en la coagulación sanguínea, es muy relativa, y depende más bien de variaciones individuales que de la especie á que pertenecen.

3.º Los extractos de algunos invertebrados, actúan como citozima.

4.º El alcohol etílico á 96º actúa como una citozima.

5.º Se diferencia, la acción del alcohol etílico á 96º de los extractos de órganos en que actúa sin necesidad de sales de calcio precipitables por el oxalato; pero un gran exceso de esta sal detiene el coágulo.

6.º Obran como citozima no solo los extractos de ór-

ganos, lipoides, sino que lo hacen tambien sustancias que no están colocadas en estos grupos.

7.º Los métodos para determinar el momento del coágulo, que sea práctico existen varios, pero ninguno resiste á las objeciones de orden teórico.

8.º La reacción de Klinger é Hirschfeld debe hacerse conjuntamente con la Wassermann y con algunos de los procedimientos de precipitación, para asegurar así, la sospecha de una afección sífilítica.

9.º La reacción de Klinger é Hirschfeld es más precoz que las reacciones de Wassermann, Gordon y Ubel, y algunas veces que la linfocitosis.

10.º El líquido céfalo-raquídeo no sirve para hacer la reacción de Klinger é Hirschfeld.

ADOLFO BERGMAN

Abril de 1917.

---

Buenos Aires, Abril 9 de 1917

Nómbrese al señor Consejero Dr. Marcial V. Quiroga, al profesor titular Dr. Pedro J. Pando y al profesor suplente doctor Rodolfo Rivarola, para que, constituidos 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. Gabaston*  
Secretario

Buenos Aires, Abril 16 de 1917.

Habiendo la comisión precedente aconsejado la aceptación de la presente tesis, según consta en el acta número 3230 del libro respectivo, entréguese al interesado para su impresión, de acuerdo con la Ordenanza vigente.

E. BAZTERRICA

*J. A. Gabaston*  
Secretario

30719

## PROPOSICIONES ACCESORIAS

### I

Pruebas de la especificidad de los elementos que entran en la coagulación de la sangre.

*M. V. Quiroga*

### II

Funciones de los lípidos en el organismo.

*P. J. Pando*

### III

Caracteres especiales del coágulo y tiempo de coagulación en las enfermedades infecto-contagiosas.

*R. Ricarola*



