P. RONDONI

■ ■ ■

COMPENDIO
DE
BIOQUÍMICA

CON APLICACIÓN A LA PATOLOGÍA Y AL DIAGNÓSTICO

REIMPRESIÓN REVISADA

EDITORIAL LABOR, S. A.
MADRID - BARCELONA - BUENOS AIRES

COMPENDIO
DE
BIOQUÍMICA
CON APLICACIÓN A LA PATOLOGÍA Y AL DIAGNÓSTICO

P. RONDONI

EDITORIAL LABOR, S. A.

COMPENDIO
DE
BIOQUÍMICA

COMPENDIO
DE
BIOQUÍMICA

Con aplicación a la Patología y al Diagnóstico

POR EL

Prof. P. RONDONI

Director del Instituto de Patología general
de la Real Academia de Milán

TRADUCCIÓN DE LA SEGUNDA EDICIÓN ITALIANA

POR EL

Dr. ANTONIO ARMENGOL

✧

Con 20 figuras en el texto

REIMPRESIÓN REVISADA

LIBRERIA AMERICANA
VICUÑA MACK.
CONCEPCION

EDITORIAL LABOR, S. A.

MADRID - BARCELONA - BUENOS AIRES

1929

Es propiedad. Queda hecho el depósito que marca la ley

Talleres tipográficos de EDITORIAL LABOR, S. A. : Provenza, 88 - Barcelona

PREFACIO

Habiéndome dispensado el honor el Prof. GARELLI, *del Regio Politécnico de Turín, de encargarme la redacción de la* Química animal, *para la gran* Enciclopedia de Química, *dirigida por él, la Casa Editorial, benemérita de los estudios médicos y biológicos en Italia, tuvo la excelente idea de formar, con el material para ello recogido y compuesto, un manual de Bioquímica no excesivamente voluminoso, destinado especialmente a los médicos que desean encontrar en un solo libro todas las nociones más modernas de Química relacionadas con la Medicina y con la Biología, dispersas en su mayor parte en distintas obras de Fisiología, Patología, Diagnóstico y Semeiología.*

Así nació este COMPENDIO DE BIOQUÍMICA, *que no sin algún temor presento a los estudiosos italianos, obligados hasta el presente a recurrir siempre a obras extranjeras, algunas de ellas excelentes sin duda alguna (Lambling, Oppenheimer, Matheus, Plimmer, Schade, etc.), cuando han querido tener una visión sintética de algunas cuestiones de Bioquímica fundamental, relacionadas con la Clínica y la Patología.*

Este libro no pretende suplantar a los tratados de Fisiología, Patología y Química general, antes bien presupone algunas nociones de estas materias. Intenta solamente aclarar conexiones, establecer relaciones y encaminar al médico para que se habitúe a ver en la enfermedad un problema biológico en general y especialmente bioquímico. Creo que será una novedad, por lo menos en los libros italianos, el apéndice de técnica con los métodos cuantitativos fundamentales y especialmente los micrométodos más recientes, en la actualidad de uso corriente en la clínica.

Contiene el libro, asimismo, varias indicaciones bibliográficas, que pueden hacerle útil aun a los no principiantes, así como a los que deseen encontrar puntos originales de investigación.

El criterio seguido al escoger las citas de autores ha sido el de no olvidar algunos trabajos fundamentales, incluyendo especialmente las investigaciones recientes que, aunque menos importantes en sí, son capaces, por su riqueza en indicaciones bibliográficas o por contener amplias exposiciones teóricas, de servir a su vez de puntos de partida para profundizar en la materia. Se han tenido en cuenta los trabajos publicados hasta el principio del año 1927.

Este libro ha sido escrito durante una gran parte del tiempo que he pasado en Nápoles, en la dirección del Instituto de Patología General, como sucesor del eminente Prof. GINO GALEOTTI : *en el transcurso de este no fácil trabajo de recolección y de síntesis, he pensado en él con frecuencia, ya que habría podido, mejor que yo, hacer una obra de este género por ser un insigne cultivador de la Química y de la Físico-química aplicada a la Biología y de una manera especial a la Patología.*

Valga, pues, este trabajo mío como un modesto homenaje a su venerada memoria, tan viva aún entre cuantos le conocieron.

El libro tendrá defectos y lagunas numerosas ; quien conozca las dificultades de la materia sabrá disculparlas y podrá ayudarme con sus consejos y orientaciones para el porvenir.

Agradezco vivamente al Doctor LUIS CALIFANO *(de Nápoles) su ayuda en la preparación de este libro, y a la señorita* ROSA MORLACCHI *(de Milán), su trabajo para la laboriosa preparación de los índices alfabéticos.*

Doy las gracias, particularmente, a la Unione Tipografico-Editrice Torinese por el interés puesto en la rápida y cuidadosa impresión del libro, que espero sea útil a los médicos italianos.

PIETRO RONDONI

Milán, Mayo 1927.

ÍNDICE DE MATERIAS

PRIMERA PARTE

Composición química del organismo animal

Págs.

I. Generalidades. — Composición química y heterogeneidad física de la substancia viviente 1

II. Elementos que se encuentran en la substancia viviente 3

III. El agua. — Resumen de la teoría de las soluciones y de los coloides en general 6

a) Soluciones con dispersión molecular del cuerpo disuelto en el disolvente 7

b) Soluciones con dispersión iónica del cuerpo disuelto en el disolvente. 11

c) Soluciones coloidales o pseudosoluciones. Resumen sobre las propiedades de los coloides 17

IV. Combinaciones del carbono. Consideraciones generales. Asimetría molecular 41

V. Hidratos de carbono 46

a) Monosacáridos 47

b) Disacáridos 57

c) Polisacáridos 59

d) Fermentación 61

e) Aminoazúcares. Azúcares cíclicos 66

VI. Ceras, grasas y lipoides 69

a) Ceras 72

b) Grasas neutras (Glicéridos) 73

c) Lipoides 78

VII. Proteínas y sus derivados 86

a) Definición, composición centesimal, constitución. Aminoácidos. Especificidad de las proteínas 86

b) Reacciones de las proteínas. Sus propiedades coloidales 112

Págs.

c) Albumosas, peptonas y otros productos intermediarios de desintegración 129
d) Teoría de KERZFELD y KLINGER 131
e) Clasificación de las proteínas 138
f) Proteínas simples (Albuminoides simples) 139
g) Cromoproteidos 146
h) Núcleoproteidos 165
i) Glucoproteidos 179
l) Aminas biógenas 181
m) Otros derivados proteicos (amidas, etc.) 205
n) Melaninas naturales 213

VIII. Enzimas o fermentos 219

a) Los fenómenos de catálisis. Generalidades acerca de las enzimas, sus propiedades fundamentales y su naturaleza 219
b) Leyes de la acción enzimática 230
c) Cofermentos y antifermentos 232
d) Acción sintética de los fermentos. Carboligasa de NEUBERG 234
e) Formación de los fermentos en las células 235
f) Clasificación de los fermentos 236
g) El bacteriógrafo de TWORT-D'HÉRELLE 239

SEGUNDA PARTE

Las funciones químicas del organismo en condiciones normales y patológicas

SECCIÓN I

La alimentación

I. De la alimentación en general y principalmente desde el punto de vista cuantitativo 245

a) Alimentos: definición y funciones 245
b) Ley de la isodinamia y ley del mínimo 251
c) Cociente respiratorio en relación con los alimentos 252
d) Ración alimenticia 254
e) Alimentación del organismo en vías de desarrollo. La leche 266
f) Componentes minerales del régimen alimenticio 274

II. Factores cualitativos y específicos de la alimentación 279

a) Diverso valor biológico de las proteínas. La ley del mínimo aplicada a los aminoácidos 279
b) Vitaminas o factores alimenticios accesorios 284
c) Enfermedades por carencia 305

III. Nociones de química dietética médica 308

a) Caldo de carne 308
b) Cura láctea. Dieta láctea 311

Págs.

IV. El trabajo químico de la digestión. Resumen de Fisiopatología de la digestión 314

a) Generalidades 314
b) Saliva 314
c) Digestión gástrica 316
d) Quimismo intestinal 325
1. Jugo pancreático 325
2. Jugo intestinal 329
3. Bilis 331
4. Formación de los cálculos biliares 337
5. Digestión y absorción intestinal 340
6. Funciones químicas del intestino grueso. Bacterias intestinales. 347

SECCIÓN II

Organización química y físico-química del protoplasma y de los medios internos (sangre y linfa)

I. Los fermentos considerados como instrumentos del trabajo químico de las células 355

II. La permeabilidad de las membranas celulares 358

III. Composición química de la sangre 370

a) Generalidades 370
b) Las células de la sangre 372
c) El plasma sanguíneo 377
1. Proteínas del plasma 379
2. Compuestos nitrogenados no proteicos 390
3. Compuestos orgánicos no nitrogenados 394
4. Sales 401
5. Fermentos 402
d) La coagulación de la sangre 402
e) Los gases de la sangre y los cambios respiratorios 411

IV. Reacciones inmunitarias 420

a) Complemento 420
b) Antígenos y anticuerpos 421
c) Reacción de WASSERMANN 433

V. Proteinoterapia 440

VI. Las constantes químico-físicas de la sangre y las condiciones químico-físicas de la vida celular 446

a) Presión osmótica. Osmorregulación 446
b) Reacción de la sangre y de los tejidos. Teoría de la acidosis 456
c) El equilibrio iónico-salino en la sangre y en los tejidos 469
d) Otras características químico-físicas de la sangre 478
e) Velocidad de sedimentación de los hematíes 485

VII. Los líquidos intersticiales de los tejidos 491

a) Linfa, trasudados y exudados 491

Págs.

b) Líquido céfalo-raquídeo 504
c) Líquido amniótico 510

VIII. Las oxidaciones intraorgánicas 511

a) Conceptos generales. Teoría clásica de las autooxidaciones. Las oxidasas 511
b) Teoría de la activación del hidrógeno 517

IX. Acción biológica de la luz 534

SECCIÓN III

El metabolismo material y energético

I. Leyes de la conservación de la materia y de la energía en el organismo 543

II. El recambio material: entrada y salida globales 547

III. El metabolismo intermediario de los hidratos de carbono 552

a) Formación de los hidratos de carbono 552
b) Desintegración de la glucosa 562
c) La glucosuria, la diabetes y la insulina; otras hidraturias 571
d) Acción farmacológica de los azúcares 590

IV. El metabolismo intermediario de las grasas y lipoides 592

a) Formación de las grasas 592
b) Transporte y escisión de las grasas 598
c) La cetosis o acetonemia 602
d) La obesidad o polisarcia 610

V. El metabolismo intermediario de las proteínas 614

a) Proteínas vivientes y proteínas de reserva 614
b) Destino de los aminoácidos en el metabolismo intermedio 615
c) Formación de la urea 630
d) Formación y metabolismo normal y patológico de la creatina y de la creatinina 635
e) Destino del azufre de las proteínas 642
f) Otros derivados proteicos 643

VI. El metabolismo intermediario de los núcleoproteidos y la gota 645

VII. El metabolismo del tejido nervioso y del músculo 663

a) Resumen acerca del tejido nervioso 663
b) Química del músculo 665
c) Contracción muscular 670

VIII. Las correlaciones funcionales 677

IX. Las leyes del metabolismo (especialmente del energético) en el organismo normal y patológico 687

a) Métodos de estudio 687
b) Las leyes fisiológicas fundamentales del metabolismo energético .. 692

Págs.

c) El metabolismo en el ayuno y en la hiponutrición 705
d) El metabolismo en la hipernutrición 708
e) Otras modificaciones metabólicas 709
f) El metabolismo en la fiebre 731

SECCIÓN IV

La secreción urinaria

I. La función renal 725

II. La composición química de la orina normal y patológica 735

a) Generalidades, densidad, olor, pigmentos cromógenos 735
b) Reacción de la orina. — Componentes minerales 746
c) Derivados del metabolismo del nitrógeno 751
d) Componentes ternarios 755
e) Albuminuria 759
f) Sedimentos no organizados y cálculos urinarios 763

TERCERA PARTE

Algunos métodos de análisis cuantitativo de uso más corriente, con especial mención de los micrométodos recientes

Observaciones generales 773

Descripción de los métodos analíticos 776

1. Toma de la sangre para los microanálisis 776
2. Desalbuminación de la sangre con alcohol metílico 776
3. Método para desalbuminar la sangre según FOLIN y WU 776
4. Determinación del N total (en las heces, en los tejidos, en la orina, etc.) con el método de KJELDAHL, modificado por GUNNING-ARNOLD). 777
5. Microdeterminación del nitrógeno total de la orina según FOLIN y FARMER 779
6. Microdeterminación del N total de la orina con nesslerización directa, según FOLIN y DENIS 780
7. Dosificación de las proteínas en los tejidos, orina, sangre, etc. 781
8. Determinación del N residual o no proteico de la sangre, según FOLIN y colaboradores (especialmente: FOLIN y WU) 782
9. Método de v. SLYKE para la determinación del nitrógeno amínico .. 783
10. Método por el formol, según SCHIFF-SORENSEN, para la determinación de los aminoácidos en la orina 786
11. Determinación de los aminoácidos en la sangre según FOLIN 787
12. Determinación de la urea en la orina por el método del hipobromito . 790
13. Método para la determinación de la urea en la orina y en la sangre, según MARSHALL, con la modificación de v. SLYKE y G. CULLEN 791
14. Determinación de la urea de la sangre por medio de la escisión en el autoclave 793

Págs.

15. Método de determinación directa (sin desalbuminación previa) de la urea en la sangre, según MYERS-GETTLER 793
16. Determinación del ácido úrico en la orina, según FOLIN y SHAFFER. 794
17. Microdeterminación del ácido úrico en la orina, según FOLIN y MACALLUM-DENIS 794
18. Método directo de determinación del ácido úrico en la sangre, según FOLIN 796
19. Determinación del ácido úrico (previo aislamiento) en la sangre, según FOLIN 797
20. Determinación del ácido úrico en la sangre, según BENEDICT 798
21. Método para la determinación total de todo el nitrógeno purínico en la orina, según SALKOWSKI-ARNSTEIN 798
22. Método para determinar el NH_3 de la orina, según FOLIN 799
23. Método de FOLIN para la determinación de la creatinina en la orina. 800
24. Método de FOLIN-BENEDICT para la determinación de la creatina en la orina 801
25. Determinación de la creatinina en la orina que contenga cuerpos cetónicos, según BAU 801
26. Determinación de la creatinina en la sangre o en la leche (micrométodo), según FOLIN 802
27. Determinación de la creatina y creatinina juntas en la sangre (y en la leche), según FOLIN 802
28. Determinación de la glucosa (en la orina) por el método de FEHLING y por el de BERTRAND 803
29. Método de BENEDICT para la determinación de la glucosa en la orina. 805
30. Método de BANG (llamado método II) para la determinación de la glucosa en la orina 806
31. Micrométodo de BANG para la determinación de la glucosa de la sangre. 806
32. Método de LEWIS y BENEDICT para la dosificación de la glucosa en la sangre 809
33. Determinación de la glucosa en la sangre (micrométodo), según FOLIN y WU 810
34. Determinación rápida (micrométodo) de la acetona y del ácido β-oxibutírico en la orina, según LUBLIN 811
35. Determinación nefelométrica de pequeñas cantidades de acetona y ácido β-oxibutírico, según MARRIOTT 812
36. Determinación nefelométrica de pequeñas cantidades de cuerpos cetónicos en la orina, según FOLIN y DENIS 814
37. Método de KUMAGAWA-SUTO para la determinación de substancias grasas 815
38. Dosificación de la colesterina 817
39. Determinación de algunos componentes minerales en la orina. Dosificación de los cloruros urinarios 818
40. Método para la determinación de los fosfatos totales y de los sulfatos en la orina 819
41. Determinación de los cloruros de la sangre, según MANDEL y STEUDEL (modificación del método de VOLHARD) 820
42. Determinación de los cloruros de la sangre, según v. SLYKE y AUSTIN. 821
43. Determinación del fósforo inorgánico y del fósforo total en el plasma o en el suero de la sangre, según BELL y DOISY 822
44. Determinación del fósforo inorgánico en la sangre y orina, según BRIGGS. 824

Págs.

45. Determinación del sodio en el suero de la sangre, según KRAMER y TISDALL 825
46. Determinación del potasio en el suero de la sangre, según KRAMER y TISDALL 825
47. Determinación del calcio en el suero de la sangre, según KRAMER y TISDALL 827
48. Determinación de la capacidad de la sangre para fijar CO_2 como medida de los álcalis fijos de reserva, según van SLYKE y CULLEN. 827

Erratas 834

Índice alfabético de materias 835

Índice alfabético de autores 845

PRIMERA PARTE

Composición química del organismo animal

CAPÍTULO I

Generalidades. — Composición química y heterogeneidad física de la substancia viviente

La composición química de los organismos vivientes puede ser estudiada de varias maneras y desde distintos puntos de vista. Puede analizarse el organismo por los métodos usuales en Química analítica y procurar establecer qué *elementos* o *cuerpos simples* entran a formar parte de la composición de la substancia viva. Además puede descomponerse esta substancia viva en las individualidades químicas más o menos complejas que de ella resultan, procurando conocer, aislar y analizar los llamados *compuestos* o *principios inmediatos* de la substancia dicha : substancias proteicas, grasas, hidratos de carbono, sales y agua. Efectivamente, la materia viva tiene una estructura extraordinariamente complicada, no está formada por una sola combinación de elementos bien definida, no es una agregación de varias moléculas, todas iguales entre sí ; durante muchos años ha dominado en Biología el concepto de la *molécula-biógena* (VERWORN), según el cual el protoplasma estaría constituído por *moléculas gigantes* o conglomerados atómicos lábiles en continua disgregación y reconstrucción, incluyendo entre ellos las moléculas proteicas, ya bastante grandes, asociadas como en una unidad química superior y exclusiva de la substancia viva, con moléculas de grasa e hidratos de carbono, con moléculas salinas y acuosas ; pero hoy esta concepción puramente química ha sido reemplazada, según casi todos los investigadores, por una concepción más químico-física, según la cual la substancia viviente es un sistema heterogéneo, constituído por moléculas o agregados moleculares diversos, dominados por las leyes del estado coloidal, más que por las del equilibrio químico. Al hablar de las propiedades de los coloides, tendremos ocasión de definir mejor estas cuestiones, limitándonos por ahora a confirmar la característica eminentemente *física* de la heterogeneidad de la substancia viva en el sentido de que ésta ofrece diferenciaciones claras de los estados de agregación separados por superficies amplísimamente desarrolladas, tal como la espuma formada por burbujas de gas, separadas por lá-

minas líquidas, o como una emulsión constituída por gotas de un líquido dispersas en el seno de otro líquido no miscible con el primero.

Si la substancia viva fuese físicamente homogénea o continua en su estructura (sin superficies que limitasen *fases* diversas), ésta, aun estando constituída por moléculas muy lábiles, no podría ofrecer los fenómenos químicos complejos y distintos, que se verifican uno al lado del otro sin estorbo recíproco, como podremos comprobar al ocuparnos de la explicación de los fenómenos vitales. La vida está ligada con el medio microheterogéneo (coloidal) constituído por el protoplasma ; con el auxilio de diversos medios ópticos (microscopio, ultramicroscopio) hemos llegado a descubrir la parte más grosera de esta heterogeneidad física, la cual resalta mucho mejor si, además del protoplasma verdaderamente activo y funcionante, consideramos los constituyentes llamados *paraplasmáticos* de los tejidos, como la substancia intercelular en todas sus variadas diferenciaciones (fibrillas, substancia fundamental, fibras elásticas, laminillas óseas, etc.). Pero, más allá de la penetrabilidad de los medios ópticos comunes, debemos admitir una heterogeneidad ulterior mucho más fina, revelada por las llamadas *propiedades coloidales*, a las que se deben las particulares orientaciones e intensidades singulares de ciertas reacciones químicas que acompañan a la vida. En gran parte, las grandes dimensiones de la molécula proteica (y las substancias proteicas son compuestos inmediatos *indispensables* del protoplasma) así como de las moléculas de ciertos lipoides y hasta hidratos de carbono, son las que determinan esta microheterogeneidad de la substancia viviente ; en las *moléculas sencillas* de estos compuestos inmediatos bien definidos, y no en una supermolécula hipotética (molécula-biógena) es donde se verifican los fenómenos de desintegración y oxidación por una parte y de reintegración y reducción por otra, mientras que las leyes del equilibrio físico-químico regulan y engranan unos en otros estos simples procesos determinando así su conexión general.

Debemos ante todo dar una idea acerca de los elementos que entran en la composición de los organismos vivientes, claro que teniendo presente de una manera preferente los animales y especialmente al hombre ; estudiaremos después cada uno de los componentes o principios inmediatos del protoplasma (en el sentido más amplio, comprendiendo también el paraplasma o derivados del verdadero protoplasma, los cuales tienen una vida, por decirlo así, más grosera, pero que no son, como se creía antes, materiales pasivos e inertes), es decir, enumeraremos brevemente cada uno de los compuestos químicos que se encuentran asociados para formar parte del organismo. Sin embargo (y especialmente por lo que se refiere a las proteínas) examinaremos la composición de los cuerpos vivos desde un punto de vista no puramente químico, sino también físico-químico, teniendo en cuenta la heterogeneidad física del protoplasma, ya mencionada.

CAPÍTULO II

Elementos que se encuentran en la substancia viviente

Los elementos que jamás faltan en el organismo son : el *carbono*, el *hidrógeno*, el *nitrógeno*, el *oxígeno*, el *azufre*, el *fósforo*, el *calcio*, el *magnesio*, el *sodio*, el *potasio* y el *cloro*. No es cierto que no pueda haber vida propiamente dicha faltando alguno de estos elementos : las investigaciones de LOCKEMANN, confirmadas por BRAUN y KONDO (1) sobre el desarrollo de un microfito, el bacilo de la tuberculosis, han demostrado que el calcio y el sodio no son indispensables a estos gérmenes para la edificación y mantenimiento de su protoplasma ; pero para los animales está comprobada la presencia constante y necesaria de todos los elementos antes citados.

Podrían añadirse también otros elementos muy difundidos en los tejidos animales, si es que no pueden llamarse constantes e indispensables : el *manganeso*, de importancia en los procesos de oxidación ; el *yodo*, que se halla en muchos tejidos, pero especialmente en el tiroides, órgano central del metabolismo de este metaloide ; el *arsénico*, que se ha encontrado también en numerosos tejidos (A. GAUTIER), pero especialmente en los de origen ectodérmico (pelos, epidermis, cerebro, mama, tiroides) y que quizás, a veces y limitadamente, pueda sustituir al fósforo, tan afín a él, en la estructura de los componentes nucleares (nucleínas arsenicales del tiroides, según A. GAUTIER) (2).

También el *flúor* se encuentra en el organismo en proporción pequeñísima en los tejidos de elevada vitalidad, con abundante protoplasma activo ; en cantidad mucho más considerable en los tejidos con vitalidad reducida, ricos en materiales paraplasmáticos (huesos, dientes, cartílagos, tendones, así como en la epidermis y pelos). El

(1) *Klin. Woch.*, 1924, n.° 1.

(2) No hay unanimidad acerca del asiento del As en la célula : muchos suponen que va ligado a los compuestos nucleares, mejor que al citoplasma. De todos modos, parece deducirse de los trabajos de M. SEGALE (*Arch. Scienze med.*, XXVII, 1903) que es solubilizado en el proceso de autolisis de varios órganos, tanto que es posible proceder a su reconocimiento por medio del método biológico de GOSIO (acción del *Pennicillum brevicaule* sobre materias que contienen As atacable : desarrollo de arsinas volátiles, de olor aliáceo).

bromo se encuentra también (por ejemplo, en el tiroides); este cuerpo tiene una gran capacidad para sustituir al cloro en la sangre y en varios tejidos, cuando se suministra al organismo (cura de bromuros).

El *silicio* se halla en el tejido conjuntivo; parece en efecto que la aportación abundante de silicio favorece la formación del mismo (terapéutica silícica de la tuberculosis). En cuanto al *plomo* y al *zinc*, puede decirse que hasta ahora han sido considerados como ajenos a la composición normal del protoplasma, indiferentes o nocivos, y clasificados como constituyentes accesorios o *secundarios*, que penetran accidentalmente del exterior; para el zinc, DELEZENNE (1) ha demostrado su presencia constante y su importancia en el veneno de las serpientes; más tarde lo ha encontrado constantemente en la sangre y en muchos órganos de varios animales (así como en las plantas). En los mamíferos, el timo y el cerebro son los más ricos en Zn (85-89 miligramos $^0/_{00}$ por término medio); sigue el hígado (35-48 mgr.), después los músculos y la sangre (20-21 mgr.); luego el páncreas, el bazo, la mucosa intestinal, etc. Los huevos y en menor cantidad la leche contienen zinc; la carne de buey contiene, según WEITZEL (2) unos 49 mgr. por kilogramo de substancia fresca.

¿Tiene el zinc alguna función en el metabolismo celular, o bien es una simple consecuencia de su introducción por vía alimenticia, del paso a la sangre y a varios órganos, depositándose accidentalmente en algunos como el hígado y eliminándose por fin? La presencia de cantidades importantes de este metal en órganos no considerados como depósitos habituales de metales y su amplia difusión en los dos reinos de la naturaleza viviente, hacen pensar que el Zn sea un elemento verdaderamente integrante del organismo, como el Fe, el Ca y otros metales que se encuentran también en cantidades tal vez menores. Debe advertirse que el Zn no se halla en el plasma de la sangre, sino principalmente en los leucocitos. En el veneno de las serpientes hay una estrecha relación, según DELEZENNE, entre la actividad enzimática (lipolítica a cargo de los ácidos nucleínicos), la toxicidad y la proporción de este metal. PICCININI, considera que el Zn no entra propiamente como constituyente necesario en la formación del protoplasma, sino que, al igual que otros metales, es un elemento indispensable para la regularización funcional de éste, obrando como un catalizador o regulador, engranándose quizás de una manera especial con la actividad enzimática, de manera parecida al Mn.

Podemos recordar aquí la acción favorable al desarrollo de varios hongos (*Aspergillus*, en el clásico experimento de RAULIN) que se activa de una manera notable con la adición de mínimas cantidades de Zn al líquido de cultivo; también el Mn tiene una acción pronunciadísima en este sentido, acelerando de una manera especial la fructificación. El Mn, el Al y el Bo favorecen de un modo notorio el desarrollo de los vegetales superiores (cereales, remolacha). Ciertas observaciones hechas con otro objeto por RONDONI, han demostrado que mínimas cantidades de Zn aceleran también el desarrollo del cultivo de bacilo tuberculoso, mientras que cantidades mayores lo impiden.

(1) *Ann. Inst. Pasteur*, XXXIII, 1919.
(2) Véase *Rivista* de PICCININI, en *Bioch. e terap. sper.*, año V, fasc. 10.°, 1919.

Algunos han admitido la presencia de *níquel* en el organismo, pero debe tratarse de penetraciones accidentales. Sobre la presencia abundante del *cobre* en ciertos animales, véase la parte correspondiente a los pigmentos hemáticos. ZANDA (1) lo ha encontrado en muchísimos representantes del reino animal, aun exceptuando aquellos (moluscos, crustáceos) que lo poseen como constituyente abundante del pigmento hemático; así se encuentra en la sangre y en varios tejidos de mamíferos (aun en ayuno), en los huevos y en las plumas de los pájaros, etc.

El *boro* ha sido encontrado casi constantemente en los órganos humanos, aun en los fetales, por MOSCATI (2).

(1) *Bioch. e terap. sper.*, año XI, fasc. 1.°, 1924.
(2) *Arch. Scienze biol.*, vol. III, n.° 3-4.

CAPÍTULO III

El agua. — Resumen de la teoría de las soluciones y de los coloides en general

El agua es el componente cuantitativamente más importante de casi todos los tejidos.

Los tejidos contienen tanta más agua cuanto más jóvenes son : el feto tiene una cantidad global de agua que oscila entre el 95 y el 75 % ; el niño, del 75 al 70 % ; en el adulto disminuye el agua con el transcurso de los años hasta llegar al 59 % en la edad más avanzada. Esta progresiva disminución de la cantidad de agua es característica del envejecimiento del organismo. La proporción de agua está íntimamente relacionada con las condiciones de inmunidad natural, y se atribuye en gran parte a la gran cantidad que de ella existe en el organismo infantil la mayor receptividad de éste para ciertas infecciones. Por otra parte, la importante pérdida de agua que experimenta el organismo en el transcurso de los años y que está relacionada con varias modificaciones físicas de los tejidos en la senilidad (aumento de dureza, menor turgencia, etc.) explica la menor permeabilidad de ciertas membranas y estratos celulares y la consiguiente reducción de los cambios nutritivos.

Puede decirse de una manera aproximada que de los 70 kg. que pesa un adulto, 43-44 kg. corresponden al agua ; casi la mitad de ella está contenida en los músculos y el resto se reparte entre la sangre (5 a 9 % del agua total del cuerpo), el esqueleto y los diversos órganos.

Los músculos poseen una gran cantidad del agua total, no porque sean particularmente ricos en ella (no contienen mayor cantidad que los órganos parenquimatosos por unidad de peso), sino porque forman gran parte de la masa corpórea ; por la misma razón de su masa los músculos retienen una gran cantidad del agua que se inyecta experimentalmente en las venas de un animal. Esta función de depósito de agua en exceso, hablando propiamente, no es peculiar de la parte contráctil del músculo (fibra) sino del tejido conjuntivo incluído (endomisio y perimisio) : en general, gran parte del conjuntivo es en mayor o menor grado un verdadero depósito de agua y un regulador de

la economía hídrica y salina del organismo. Por el contrario, el tejido adiposo, que es también una forma especial de tejido conjuntivo, es pobre en agua (20 %), y se comprende que también lo sean los tejidos duros (huesos, dientes, con 20-27 % de su peso en agua, en vez del 70-80 % que contienen casi todos los tejidos blandos).

Como veremos en seguida, cada tejido tiende a mantener con una gran constancia su contenido acuoso ; y el organismo entero regula también de una manera perfecta su proporción total de agua. Las dos grandes fuerzas físicas que mantienen y determinan el contenido acuoso de las células son : la afinidad que tienen por el agua las moléculas e iones de los numerosos cuerpos en solución verdadera, afinidad que se manifiesta como presión osmótica, y la afinidad por el agua de las numerosas substancias en estado coloidal y precisamente en estado de coloides hidrófilos (agua de imbibición) como se explicará mejor más adelante. El agua es el disolvente general de todos los componentes más o menos solubles del organismo y puede decirse que todas las reacciones químicas que acompañan a la vida se desarrollan en este disolvente, muchas de ellas con la participación directa de las moléculas del agua o de los iones (OH' y $H^{\cdot}$) en que éstas se dividen.

Debemos recordar aquí, en efecto, que en el organismo se encuentran las tres formas fundamentales de solución admitidas en Físicoquímica, entendiendo por solución la subdivisión o *dispersión* más o menos íntima de una substancia en el seno de otra que hace de disolvente. Se conocen tres tipos de solución :

a) Soluciones con dispersión molecular del cuerpo disuelto en el disolvente.

El cuerpo disuelto es disgregado hasta la molécula, y éstas se mezclan uniformemente con las moléculas del disolvente. Los azúcares, la urea o el alcohol, disueltos en agua, ofrecen ejemplos de este tipo de solución, el más característico y sencillo de todos. El cuerpo disuelto en esta forma en el agua se comporta igual que lo haría un gas en un espacio cerrado. Si imaginamos una capa líquida en el fondo de un recipiente cerrado cualquiera y suponemos que el líquido es más o menos volátil, veremos que las moléculas pasan continuamente del estado líquido al gaseoso, es decir que el líquido se evapora hasta que el vapor acumulado en el recipiente tiene una tensión capaz de equilibrar exactamente la tendencia de las moléculas del líquido a separarse de éste. Sin embargo, aun entonces, y a pesar de las apariencias, no hay un reposo absoluto en el sistema, sino que el número de moléculas que pasan del estado líquido al gaseoso es exactamente igual al de moléculas que del estado gaseoso vuelven a formar parte de la masa líquida.

Cuando disponemos una capa de un disolvente (agua) sobre un cuerpo soluble, por ejemplo azúcar, vemos disolverse éste poco a poco. es decir, que las moléculas se desprenden de los lazos de relativa fijación propios del estado sólido y *se dispersan* entre las moléculas de

agua. Las moléculas que así pasan en disolución tienden a distribuirse uniformemente por toda la masa líquida *(difusión)* con velocidad diversa según la substancia, disolviéndose tantas de ellas cuantas sean necesarias para llegar a un estado de equilibrio entre esta tendencia de la substancia sólida a ceder moléculas dispersas al disolvente *(tensión de solubilidad)* y una cierta presión, que aparece y aumenta en la disolución proporcionalmente a la concentración de las moléculas disueltas y que se llama *presión osmótica*. En realidad, las moléculas del cuerpo disuelto se comportan de manera semejante a las de un gas y ejercen una presión —llamada precisamente *presión osmótica*— igual a la que una idéntica cantidad de la misma substancia en estado gaseoso ejercería en un espacio cerrado de dimensiones iguales a las del disolvente, debida también como ésta al movimiento de las moléculas. Débese a VAN'T HOFF el estudio de las leyes de la presión osmótica y la demostración de su identidad con las leyes de los gases. Así como los gases (con ciertas limitaciones) siguen la ley de BOYLE y MARIOTTE (el volumen es inversamente proporcional a la presión, siendo constante la temperatura) y la ley de GAY-LUSSAC (el volumen, a igualdad de presión, crece proporcionalmente con la temperatura), en los cuerpos en disolución, la propiedad particular llamada presión osmótica es inversamente proporcional al volumen ocupado por el cuerpo disuelto, o sea que *es directamente proporcional a la concentración molecular* de éste (una misma cantidad de substancia disuelta, tendrá naturalmente una concentración tanto mayor cuanto menor sea el volumen ocupado por la disolución, o sea cuanto más reducida sea la cantidad de disolvente empleado), y, además, también la presión osmótica crece de un modo proporcional al aumento de la temperatura. Así como para los gases es válida la ley de AVOGADRO, derivada de las primeras, según la cual «en volúmenes iguales de gases cualesquiera a la misma presión y temperatura se encuentran igual número de moléculas», así para las soluciones verdaderas es aplicable esta misma ley en el sentido de que, «a igualdad de temperatura, las soluciones de cualquier substancia molecularmente dispersa que posean la misma presión osmótica, deben contener en volúmenes iguales el mismo número de moléculas del cuerpo disuelto». Tengamos bien presente esta ley de la equimolecularidad de las soluciones que tienen una misma presión osmótica o *isotónicas*, pues nos será útil más adelante.

Sin embargo, debemos preguntarnos cómo se revela esta presión osmótica : no podemos reconocerla de igual modo que la de un gas contenido en un recipiente, porque en el caso del cuerpo disuelto la presión osmótica es siempre muy inferior a la *presión interna*, que deriva de la atracción recíproca de las moléculas del líquido (agua), la cual es opuesta a la presión osmótica y por decirlo así la cubre y enmascara. Para poner en evidencia la presión osmótica podemos valernos de artificios : uno de ellos consiste en poner la solución dentro de un recipiente que comunica con un tubo que actúa como manómetro por el cual puede subir el líquido y permitir así la comprobación y lectura de una presión hidrostática determinada ; este recipiente está separado de una masa de disolvente puro (agua), por medio de una membrana llamada *semipermeable*, esto es, permeable al disolvente (agua) y no al cuerpo disuelto. En este caso y por efecto de la membrana semipermeable, tendremos como una criba que permite el paso de las moléculas del agua, pero no el de las del cuerpo disuelto : las moléculas de éste podrán, pues, expansionarse libremente hacia el tubo manométrico, como lo harían las de un gas, precipitándose dentro, por decirlo así, las moléculas acuosas a través de dicha criba ; veremos entonces que el agua penetrará en el recipiente que comunica con el tubo de ascenso *(osmómetro)* y la solución, al diluirse, ascenderá por este tubo hasta cierto punto, esto es, hasta que la presión hidrostática de la columna líquida contrarreste exactamente la presión osmótica. Debemos pues admitir, aunque no sea más que de una manera hipotética y explicativa, que las moléculas de la substancia disuelta atraen con cierta fuerza a las del disolvente agua y que las moléculas de agua se atraen también mutuamente. Así, pues, en las condiciones ordinarias de una solución, la tendencia de las moléculas del cuerpo disuelto a expansionarse no puede ponerse en evidencia sino utilizando el artificio de la membrana semipermeable, produciendo una especie de brecha en la muralla de la fuerza atractiva interna ya citada, de manera que las moléculas disueltas queden en libertad de alejarse unas de otras, aspirándose en cierta manera una cantidad determinada de moléculas de agua disponibles a través de la membrana del osmómetro hasta que el peso del agua represente una fuerza igual y contraria a la presión osmótica.

Todos los cuerpos solubles tienen tendencia a repartir sus moléculas de una manera uniforme entre las moléculas del agua para llegar a un estado de equilibrio, con la dispersión molecular completa ; entre las moléculas de agua y las moléculas de los cuerpos solubles probablemente actúan verdaderas fuerzas atractivas especiales (valencias accesorias). Ahora bien, en la difusión corriente las moléculas disueltas avanzan libremente entre las acuosas, mientras que en el dispositivo osmométrico son las moléculas de agua las únicas que pueden atravesar la membrana semipermeable, para mezclarse con las del cuerpo disuelto.

Pero hay otro artificio más cómodo para la medición indirecta de la presión osmótica y, por lo tanto, de la concentración molecular paralela a ella : sabemos que si queremos lograr que de una solución de un cuerpo no volátil se evapore solamente el disolvente, debemos emplear un cierto trabajo para vencer las citadas fuerzas atractivas entre el disolvente y el cuerpo disuelto. Si, por ejemplo, queremos separar el agua de una solución de azúcar, es decir, concentrarla, podemos conseguirlo por ebullición ; pero nos encontraremos con que la disolución acuosa de azúcar no hierve a 100° como el agua pura, sino a una temperatura un poco más alta : este calor en exceso, necesario

para hacer evaporar el agua de la disolución, sirve para vencer la citada fuerza molecular. Igualmente, si recordamos que la congelación de una solución hace que el disolvente se separe del cuerpo disuelto, y así, por ejemplo, el hielo que se forma de una solución salina no contiene la sal sino solamente el agua, comprenderemos que también para congelar una solución es necesario emplear un trabajo en contra de la presión osmótica, es preciso concentrar cada vez más la solución ; de aquí se deduce que una solución tendrá un punto de congelación más bajo que el del disolvente, tanto más cuanto más concentrada sea.

La elevación del punto de ebullición y el descenso del punto de congelación respecto a los del disolvente puro, pueden servirnos igualmente para medir la presión osmótica y, por lo tanto, la concentración molecular de las soluciones, pero en Biología se acostumbra a usar casi exclusivamente el método fundado en la determinación del punto de congelación.

Una solución acuosa de sacarosa al 1 % presenta un punto de congelación de —0,054°, o sea algo menos de un vigésimo de grado bajo 0°, mientras que el agua pura se solidifica a 0° ; una solución *normal* de cualquier substancia molecularmente dispersa (se llama *normal* la solución que contiene en 1000 c. c. de volumen, un peso en gramos de substancia, igual al valor del peso molecular : por ejemplo, si el peso molecular de la urea es 60,052, una solución normal de urea se compone de 60,052 gr. de esta substancia adicionada de agua hasta completar el volumen total de un litro) presenta un punto de congelación de —1,85°.

Como se deduce de lo dicho, todas las soluciones normales son equimoleculares y tienen la misma presión osmótica (= 22,43 atmósferas si se mide osmométricamente) y, naturalmente, presentarán el mismo descenso en su punto de congelación.

Se ha llegado a calcular que en un *mol* de una substancia, esto es, en un número de gramos igual a su peso molecular, o sea en aquella cantidad de substancia que debe disolverse en un litro de agua para tener una solución normal (1), hay cerca de 10^{24} moléculas sencillas.

En los líquidos internos del organismo (sangre) dominan las presiones osmóticas de 9-10 atmósferas, pero sobre esto insistiremos a su debido tiempo. El descenso del punto de congelación se indica con la letra griega Δ (o con la minúscula δ). Por ejemplo, la sangre tiene $\delta = -0{,}55°$ aproximadamente. Pero en las soluciones complejas, como la sangre, no es únicamente el número de *moléculas* el que determina el valor de la presión osmótica y por lo tanto el Δ ; más adelante veremos por qué.

(1) En rigor debe decirse que para tener la solución normal, debe disolverse la molécula-gramo o mol de una substancia en la cantidad de agua necesaria para obtener un litro de solución. La solución 1/10 normal (o abreviadamente n/10) es la normal diluída al 1 : 10 ; se usan soluciones n/100, n/1000, etc. ; o 2n, 3n.....

b) Soluciones con dispersión iónica del cuerpo disuelto en el disolvente.

Ciertas substancias, los ácidos, las bases y las sales, se disuelven en el agua experimentando lo que se llama *disociación electrolítica* o *ionización*, es decir, que las moléculas sencillas se disgregan en fragmentos constituídos por átomos o grupos de átomos provistos de una carga eléctrica, llamados *iones*. Así, la molécula de cloruro sódico NaCl se disocia en los llamados ion cloro, con carga eléctrica negativa (que se indica así : Cl^- o Cl') y ion sodio, con carga eléctrica positiva (Na^+ o $Na^{\cdot}$) ; la molécula del ácido sulfúrico H_2SO_4 se disocia en los iones siguientes : $H^{\cdot}$, SO_4'' y HSO'_4, por donde se ve que, tratándose de un ácido bibásico (con dos átomos de H sustituibles), la disociación iónica se verifica como por grados, primero destacándose un H-ion del resto de la molécula ($H_2SO_4 = H^{\cdot} + HSO'_4$) ; y luego separándose también el otro por disociación ulterior ($HSO'_4 = H^{\cdot} + SO''_4$). El número de puntos o de vírgulas puestas en la parte superior y a la derecha del símbolo químico que designa al átomo que compone el ion, sirve para expresar la valencia del mismo, o sea la cantidad de carga eléctrica (de nombre positivo o negativo). Se debe a Arrhenius la teoría moderna de la disociación electrolítica : los cuerpos llamados *electrólitos* (ácidos, bases y sales) dan origen a soluciones conductoras de la electricidad, precisamente porque el disolvente las disocia en iones, esto es, en agrupamientos atómicos provistos de carga eléctrica, por lo cual cuando se hace pasar una corriente por esta solución, los iones son separados y atraídos ; los positivos (cationes : metales, H-iones de los ácidos) van hacia el polo negativo o cátodo, y los negativos (aniones : OH-iones de las bases, metaloides, radicales de los ácidos después de separarles el H, etc.) hacia el polo positivo o ánodo, donde se descargan y, perdiendo su carga eléctrica, dejan de subsistir como iones, pero vuelven al estado molecular. Debe tenerse bien presente que no es la corriente la que divide la molécula en iones, sino que esta escisión es producida por el disolvente, antes de todo paso de la corriente y ésta no hace más que provocar la emigración de los iones en uno u otro sentido, según el nombre (o signo) de su carga ; como si en una escuela, en una clase mixta de niños y niñas el mandato del maestro separase los niños a un lado y las niñas al otro. El agua, el disolvente universal del organismo, tiene, respecto a casi todos los demás disolventes, el máximo de aptitud disociante. Todos los electrólitos tienen un grado específico de disociación en el agua : o sea, que en igualdad de condiciones (temperatura, concentración, etc.) son disociados en una cierta y determinada proporción. La disociación electrolítica crece con la temperatura y con la dilución, es decir, con la masa del disolvente respecto a la del cuerpo disuelto. A la temperatura del cuerpo y a la concentración que en él se encuentran muchas sales (por ejemplo NaCl, KCl, etc.) están *casi* completamente disociadas en iones, noción ésta que debe tenerse muy pre-

sente para las aplicaciones biológicas. Es necesario acostumbrarse a pensar que en una solución, por ejemplo de cloruro sódico, existen: Na-iones, Cl-iones, moléculas no disociadas de la sal (de éstas tantas menos cuanto más diluída sea la solución y más alta la temperatura) y moléculas de agua, de las cuales muy pocas están también disociadas en iones OH' y $H^{\cdot}$. A los iones y no a las moléculas íntegras se deben muchas propiedades de las soluciones de este tipo. También aumentan los iones el valor de la presión osmótica, comportándose desde este punto de vista como otras tantas moléculas: por esto en las soluciones de electrólitos el valor de la presión osmótica, y por lo tanto de Δ, es siempre superior en cierta cantidad (que corresponde al grado de ionización) al valor que correspondería a la solución si el cuerpo disuelto sufriese sólo una dispersión molecular. Una molécula-gramo de una sal (electrólito) disuelta en una cierta masa de agua determina una presión osmótica *mayor* que una molécula-gramo de azúcar disuelta en una cantidad de agua igual a la anterior (dispersión solamente molecular), porque un cierto número de las moléculas de la sal han sido disociadas. Si consideramos las soluciones diluídas de las sales cuyas moléculas se dividen en dos iones cada una, tendremos en ellos una presión osmótica casi el doble de la que posee la solución igualmente concentrada (en mols o moléculas-gramo o fracciones de moléculas-gramo) de un cuerpo no electrólito. En resumen: la *presión osmótica* (y por lo tanto el valor de Δ) *de una solución expresa su concentración en moléculas + iones.*

Por otra parte, la *conductibilidad eléctrica* está ligada solamente con la cantidad ionizada del electrólito, por lo tanto su valor λ expresa el grado de ionización o disociación electrolítica de una solución.

En los líquidos orgánicos se encuentran disueltas substancias dispersas molecularmente y substancias más o menos ionizadas; el Δ relativo es debido a la suma total de las moléculas y de los iones, sea cual fuere su naturaleza y dimensiones. El concepto corriente de que el Δ de la sangre, por ejemplo, expresa la concentración molecular de este líquido, debe corregirse en el sentido de que expresa la concentración en moléculas y en iones disociados de las primeras.

Los iones tienen mayor actividad química que las moléculas íntegras. La antigua frase: *Corpora non agunt nisi soluta* se encuentra justificada en gran parte por el hecho de que muchísimas reacciones químicas son reacciones entre iones, siendo condición necesaria para el estado iónico la presencia de un disolvente. Las reacciones entre iones se caracterizan por su gran velocidad o casi instantaneidad.

Las *propiedades físicas* (por ejemplo, el calor) y químicas de una solución salina dependen de la suma de las propiedades de cada uno de sus iones. Las llamadas *propiedades ácidas* dependen exclusivamente de los H-iones, que todos los ácidos disocian más o menos de su molécula, así como las *propiedades básicas* son exclusivas de los OH-iones disociados de la molécula de las bases. Si se disuelve un ácido, por ejemplo HCl, en un disolvente como el cloroformo que no

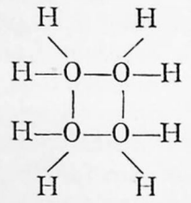
lo ioniza, queda aquel ácido privado de toda propiedad ácida: no reacciona con las bases, no enrojece la tintura de tornasol, etc. La fuerza de los ácidos y de las bases, depende de su capacidad para disociar respectivamente $H^{\cdot}$ o OH'. Así los ácidos clorhídrico y nítrico son de los más disociables (en agua); efectivamente si disolvemos un mol o molécula-gramo (= 36,468 gr.) de HCl en 1000 de agua, es decir, si preparamos una solución normal de este ácido, podremos comprobar, midiendo la conductibilidad eléctrica, que más de las dos terceras partes de la molécula se han disociado en $H^{\cdot}$ y Cl' y que la concentración en $H^{\cdot}$ equivale a 0,78 *n* (o sea a 78 centésimas de una solución *normal* de H-iones; la solución normal de H-iones es aquella que contiene en un litro de agua una cantidad de hidrógeno en estado iónico, esto es, no como gas molecular libre, sino como H-átomos con carga eléctrica positiva, igual a su peso molecular expresado en gramos, que en este caso es idéntico al peso atómico, esto es, 1,008). Por el contrario en los ácidos orgánicos, considerados como ácidos *débiles*, encontramos una disociación mucho más reducida; para el ácido fórmico unas 60 veces menor, para el acético unas 250 veces menor que para los citados ácidos fuertes, es decir que las soluciones moleculares de estos ácidos presentan un contenido en $H^{\cdot}$ disminuído en la misma cantidad. En las soluciones más diluídas que las normales, encontraremos aumentado el grado de disociación: una solución n/1000 de HCl no está disociada en un 78/100 sino en un 98/100. La diferencia entre las bases fuertes (NaOH, KOH) y las débiles (amoníaco = $NH_4 \cdot OH$) depende igualmente de la elevada disociación de las primeras, con formación de abundantes OH', y de la escasa disociación de las segundas.

Cuando un ácido reacciona con una base para formar una sal, en definitiva tenemos la reunión de $H^{\cdot}$ con OH' para constituir moléculas *neutras* de agua, permaneciendo intactos y sin reaccionar el anión del ácido y el catión de la base. Por ejemplo, la reacción HCl + + NaOH, puede escribirse así:

$$H^{\cdot} + Cl' + Na^{\cdot} + OH' = Cl' + Na^{\cdot} + H_2O.$$

Debemos añadir que también el agua está disociada en sus iones $H^{\cdot}$ y OH', en proporción mínima pero productora de fenómenos importantes. El agua dista mucho de ser sencilla en su estructura físico-química. Tanto es así, que parece que su fórmula no es, como se escribe comúnmente, H_2O, o sea H — O — H; si así fuese, el agua debería tener, dada la ligereza de su molécula un punto de ebullición más bajo y una tensión superficial menor de la que posee. No obstante, el agua hierve a 100°, su vapor tiene como temperatura crítica 365° y una tensión superficial superior a la de cualquier hidrocarburo. Las investigaciones de Eötvös parecen demostrar en realidad que, respecto a la propiedad física de la tensión superficial (véase más adelante), y por lo menos a temperaturas por debajo del punto crítico,

el agua se comporta como las substancias constituídas por agregados moleculares cuya complejidad aumenta a medida que desciende la temperatura. Se admiten, pues, moléculas como $(H_2O)_2$, $(H_2O)_3$, $(H_2O)_4$; según ARMSTRONG (1), el agua en estado líquido es: $(H_2O)_4$ en gran parte, existiendo también agrupaciones menores y también grupos elementales H_2O libres (hidrionas). Según MATHEWS la causa de esta polimerización en el seno del agua se debe al hecho de que el oxígeno tiene *valencias accesorias* o *extravalencias* libres, probablemente dos extravalencias además de las dos saturadas por el H, quien, por el contrario, tiene una valencia fija e inmodificable; el O sería, pues, tetravalente con lo cual serían posibles complejos atómicos como: $(H_2O = OH_2)$ y finalmente en cadena cerrada, por ejemplo:



Por otra parte el agua ofrece una pequeña, pero importante disociación iónica. En el agua, como en cualquier solución acuosa, no faltan nunca $H^{\cdot}$ y OH' libres y siempre en proporciones tales que el producto de su concentración (para una temperatura dada) es constante; así a 18° el producto de la concentración de los H-iones por la concentración de los OH-iones es igual a $0{,}64 \cdot 10^{-14}$. Podemos expresarlo de la siguiente manera:

$$[H^{\cdot}]_{18°} \cdot [OH']_{18°} = 0{,}64 \cdot 10^{-14};$$

en donde el nombre de los iones con el signo de su carga positiva (punto en lo alto) o negativa (vírgula en lo alto) va incluído dentro de un paréntesis [ ], para expresar que se trata de la concentración de estos iones, y puede llevar también la indicación de la temperatura. Se sabe por matemáticas elementales que la constante $0{,}64 \cdot 10^{-14}$ puede escribirse también: $0{,}64 \times 1/100000000000000$ ó $0{,}64/100000000000000$ o también 0,00000000000000064, pero la fórmula con exponente negativo es preferible por su brevedad. Dicha fórmula puede también escribirse así:

$$C_H \cdot C_{OH} = 0{,}64 \cdot 10^{-14},$$

en donde C indica la concentración. En el agua destilada purísima, el valor de la concentración de $H^{\cdot}$ es igual al de la concentración de OH', o sea, que se tiene:

(1) Véase en MATHEWS, *Physiol. Chem.*, Londres, 1916.

$$[H^{\cdot}] = 0{,}8 \cdot 10^{-7}; \text{ y } [OH'] = 0{,}8 \cdot 10^{-7}$$

que puede escribirse también:

$$C_H = 0{,}8 \cdot 10^{-7}; \text{ y } C_{OH} = 0{,}8 \cdot 10^{-7},$$

siempre para la temperatura de 18°, con lo que puede comprobarse fácilmente que el producto de los dos valores $0{,}8 \cdot 10^{-7} \times 0{,}8 \cdot 10^{-7}$ es $0{,}64 \cdot 10^{-14}$, esto es, el valor de la dicha constante. Anticipemos desde ahora que siempre que la concentración de los H-iones en una solución acuosa excede de este valor $0{,}8 \cdot 10^{-14}$, o sea que la concentración de los OH-iones *desciende* por debajo de aquel valor, dicha solución tiene carácter *ácido*; por el contrario, tiene carácter alcalino si la concentración de los H-iones desciende por debajo de $0{,}8 \cdot 10^{-14}$ y la de OH-iones aumenta correlativamente (de modo que el producto sea siempre igual a la constante).

La disociación del agua, como la de todas las substancias ionizables, crece con la temperatura: a 37°, temperatura del cuerpo humano, dicha constante, correspondiente al producto de los $H^{\cdot}$ por los OH' es igual a $2{,}56 \cdot 10^{-14}$ y, por lo tanto, a esta temperatura una solución acuosa para ser *neutra*, esto es, para contener un número igual de H-iones y de OH-iones, deberá tener una concentración molar de H-iones igual a $1{,}6 \cdot 10^{-7}$ y la misma para los OH-iones (también aquí $1{,}6 \cdot 10^{-7} \times 1{,}6 \cdot 10^{-7} = 2{,}56 \cdot 10^{-14}$). Se ve, pues, que siempre se cumple la ley expresada de este modo general: $[H^{\cdot}] \cdot [OH'] = K$, donde K es la *constante de disociación* del agua, la cual es cada vez más alta a medida que aumenta la temperatura.

De estas nociones se deduce que la acidez y la alcalinidad *real* de cualquier solución pueden expresarse en valores de H-iones libres o de OH-iones también libres. Volveremos, a su debido tiempo, a tratar de estos conceptos tan importantes para la comprensión de los hechos biológicos; ahora sólo queremos añadir que en los libros de Medicina y de Biología domina frecuentemente una anotación un poco distinta para la concentración en H- o OH-iones, propuesta por SÖRENSEN. Generalmente sólo se tienen en cuenta los H-iones, ya que sabemos que si estos aumentan, necesariamente disminuyen los OH-iones y viceversa: de la concentración de unos es fácil calcular la de los otros, conociendo el valor de la constante para una temperatura dada; pero en vez del valor de C_H, esto es de la concentración integral de los H-iones, se toma el exponente de la potencia de 10 que expresa la misma concentración, privado del signo $^-$, y se le llama pH o P_H; o sea, que en vez del número se emplea el logaritmo, con el signo cambiado. Así, si en una solución se tiene $[H^{\cdot}]_{18°} = 10^{-7}$ (que sería una solución ligerísimamente ácida porque contiene una cantidad de H-iones poco mayor que la del agua pura a esta temperatura) podemos indicar la reacción de la solución, según SÖRENSEN, de esta manera: $pH = 7$; o $P_H = 7$ (este pH se llama *número* o *índice de hidrógeno*). Si tenemos

$[H^{\cdot}]_{18^{\circ}} = 0{,}8 \cdot 10^{-7}$, esto es, la neutralidad perfecta a 18°, puede calcularse el logaritmo de 0,8, que es = 0,096 y tendremos :

$$H_{18^{\circ}} = 0{,}8 \cdot 10^{-7} = 10^{-(7+0{,}096)} = 10^{-7{,}096}$$

y por lo tanto el pH o P_H a 18° será para el agua perfectamente neutra = 7,09. Con esta notación debe tenerse presente que son ácidas las soluciones que tienen un pH por debajo de 7,09, y alcalinas las que lo tienen superior : en efecto, nos encontramos con un logaritmo al cual, para mayor sencillez, se le quita el signo — y por lo tanto el valor real en H-iones crece al disminuir este pH y viceversa. El pH del agua neutra a 22° es = 7 ; a la temperatura del cuerpo de los mamíferos sería en rigor un poco inferior : según CLARK (1) sería = 6,75 ; pero comúnmente, como las determinaciones se hacen a la temperatura ambiente de 22°-24°, se parte de un pH = 7 como punto neutro, y por lo tanto los valores pH>7 expresarán una reacción alcalina y los valores pH<7 reacción ácida.

Debemos recordar ahora que los iones del agua pueden entrar en combinación con iones de otras substancias en ella disuelta y pueden formarse complejos *poco* disociables, por lo cual la relación entre $H^{\cdot}$ y OH' puede estar fuertemente perturbada relativamente a la del agua pura. Esto sucede siempre que se disuelve en agua una sal derivada de la unión de una base débil con un ácido fuerte, o de una base fuerte con un ácido débil, o sea una sal en la cual la base o el ácido tienen poca disociabilidad iónica. Supongamos que disolvemos acetato sódico en agua : el $CH_3 \cdot COONa$ se disocia repentinamente en el anión CH_3COO' y en el catión Na ; pero el anión CH_3COO' no es más que el unión del ácido acético $CH_3 \cdot COOH$ que es un ácido débil y como tal tiene poca tendencia a dejar $H^{\cdot}$ en libertad, esto es, a disociarse en CH_3COO' y $H^{\cdot}$: esto equivale a decir que los aniones CH_3COO', o acetationes, tienen poca tendencia a existir autónomamente, y encontrando $H^{\cdot}$ disponibles, tienden a combinarse con éstos, constituyendo moléculas indisociadas de ácido acético. Tendremos, pues, el siguiente proceso : el agua se desdoblará en sus iones, proporcionando H-iones a las acetationes para constituir moléculas indisociadas de ácido acético hasta llegar al punto que corresponde exactamente a la ionización de que es capaz el ácido acético para aquella dilución y temperatura (solamente a partir de este punto quedarán H-iones libres), y quedarán en libertad OH-iones, que no se combinarán con los Na-iones, porque la NaOH es una base fuerte y por lo tanto muy disociable. Podremos escribir estas dos reacciones :

1) $$CH_3COONa = \begin{pmatrix} CH_3COO' \\ H^{\cdot} \end{pmatrix} + Na^{\cdot}$$
2) $$H_2O = \begin{pmatrix} \\ H^{\cdot} \end{pmatrix} + OH'.$$

La reacción 2) se verifica de manera que con el producto de la reacción 1) produce en la solución el mismo efecto que obtendríamos si

(1) *Determ. of. hydrogen jons*, Baltimore, 1920.

hubiésemos disuelto ácido acético y sosa cáustica en vez del acetato sódico y, naturalmente, disociando el ácido pocos $H^{\cdot}$ y la base muchos OH' se tendrá una solución claramente alcalina (se sobreentiende que el producto de los $H^{\cdot}$ con los OH' es siempre la misma constante). El mismo proceso se verifica, pero en sentido opuesto, cuando disolvemos una sal de un ácido fuerte con una base débil, por ejemplo el sulfato amónico : la solución resulta ácida, porque el agua se ioniza cediendo sus OH-iones para reintegrar con los cationes de la sal una base indisociable o menos disociable, mientras que los H-iones correspondientes quedan libres. Este proceso se llama de *hidrólisis* o *disociación hidrolítica*, en la cual el agua actúa como suministradora de $H^{\cdot}$ y OH' para dividir las sales en ácido y base.

El agua ejerce también de otra manera esta función disgregadora de los complejos moleculares y muy pronto encontraremos numerosos ejemplos de disociación con adición de moléculas de agua.

Los iones de las substancias solubles de este tipo tienen mucha mayor fuerza atractiva hacia la molécula acuosa que las moléculas íntegras : puede imaginarse que los iones están como circundados por esferas acuosas (hidratación de los iones) que, en ciertos casos, influyen en determinadas propiedades físicas de la solución (por ejemplo en la viscosidad). La presencia de iones de electrolitos en el agua obra frecuentemente como si disminuyese la masa de agua libre y disponible para otras reacciones : así, la solubilidad de los gases en el agua disminuye en presencia de varias sales disueltas en la misma, igual que si los iones salinos retuviesen para sí un cierta cantidad de agua y redujesen la cantidad de ésta que queda disponible para disolver el gas.

c) Soluciones coloidales o pseudosoluciones. Resumen sobre las propiedades de los coloides.

El nombre de *pseudosoluciones* se emplea para diferenciar las soluciones coloidales de las soluciones con dispersión molecular y iónica, agrupadas también bajo la denominación de *soluciones verdaderas*.

Las soluciones verdaderas, brevemente descritas, no ofrecen efectivamente ninguna posibilidad de distinción y separación *física* del disolvente y del cuerpo disuelto ; aparecen como homogéneas al ser examinadas por medios ópticos y al someterlas a cualquier tentativa de individualización física del material disperso. Por el contrario, las soluciones coloidales son físicamente heterogéneas y con varios medios, principalmente ópticos y hasta mecánicos, es posible distinguir la presencia de superficies de separación entre el disolvente y el cuerpo disuelto. En efecto, este último no se resuelve en partículas de las dimensiones de la molécula simple, sino en partículas de dimensiones mucho mayores, que son agregados plurimoleculares o moléculas o hasta iones gigantescos, como sucede con las substancias proteicas (en cuyo caso el sistema quizás también se complica por aparecer agregaciones de moléculas más pequeñas, constituídas por productos de

desintegración, dispuestas en anillo alrededor de la molécula proteica propiamente dicha). En Físico-química se considera una solución coloidal como un sistema polifásico, resultante por lo menos de dos *fases* o estados de la materia físicamente distintos, mientras que las soluciones verdaderas son sistemas monofásicos, porque el cuerpo disuelto ya no es diferenciable físicamente del disolvente y forma con éste una sola fase. Lo que hemos dicho acerca de la heterogeneidad del protoplasma no es más que para hacer notar la abundante participación que tienen los coloides en la constitución de la substancia viva. GRAHAM llamó *coloides* a las substancias que son poco difusibles, que tienen un aspecto como de cola o gelatina y que no cristalizan, oponiéndoles así a los cristaloides. Pero los coloides no son determinadas substancias, sino estados físicos adoptables por variadísimas substancias, caracterizados por esta propiedad fundamental de la heterogeneidad : se encuentra siempre una fase *dispersa* o subdividida dentro de una *fase continua* o medio dispersivo, hay siempre un amplio desarrollo de la superficie de separación entre las dos fases ; es este desarrollo de la superficie el que determina muchas de las propiedades especiales de los coloides. Un coloide o *dispersoide* puede tener la fase dispersa sólida y la continua líquida, como en el caso de un metal en estado coloidal ; también puede suceder que tanto la dispersa como la continua sean líquidas, siempre con proporción diversa de agua y diferente estado físico, como en una emulsión finísima de un líquido en otro no miscible con él. Podemos considerar como dispersoides una suspensión finísima de partículas sólidas o líquidas en un gas, como en el caso del humo o de la niebla ; o una solución sólida de un metal en otro. Lo esencial es siempre la heterogeneidad del sistema, que en el caso de las soluciones coloidales de suficiente transparencia se reconoce ópticamente mediante la observación del fenómeno de TYNDALL : un rayo de luz que atraviesa una solución coloidal es visible en todo su trayecto y hace visibles en cierto modo las partículas del medio disperso, porque éstas reflejan la luz en todos sentidos, de la misma manera que podemos ver un rayo de sol que penetra en una habitación oscura y percibir en él las partículas de polvo suspendidas en el aire, que de otro modo no serían visibles (la ultramicroscopia mediante la iluminación en campo oscuro, se funda en el mismo principio y no es más que una aplicación del fenómeno de TYNDALL).

Ahora bien, los coloides no tienen siempre la tendencia a tomar la forma de los recipientes que los contienen, con una superficie superior horizontal, como los líquidos : cierto que hay soluciones coloidales *(sol)* con este carácter prevalentemente líquido, pero existen también los llamados *gel* (de gelatina) en los cuales la fase dispersa o la continua, o las dos, tienen una cierta consistencia y fijeza de relaciones, por lo cual los caracteres del conjunto tienen más parecido con los de un material sólido o semisólido.

El organismo está constituído esencialmente por soluciones coloidales con caracteres de *sol* o de *gel*, apareciendo en los coloides orgánicos,

como en tantos otros, una clara *reversibilidad* o facilidad de pasar en los dos sentidos de uno a otro estado (como la gelatina o el agar de uso en Bacteriología, que según la temperatura son sol o gel). Según la naturaleza del disolvente se habla de alcohol-sol, alcohol-gel, hidrosol, etc. Pero como el disolvente universal en el organismo es el agua, podemos decir que en él tenemos hidrosoles e hidrogeles.

Es oportuno, en este resumen general del estado coloidal, dar algunos datos numéricos. Puede decirse que no existe un límite claro entre las soluciones coloidales y las soluciones con dispersión molecular, ni tampoco entre las soluciones coloidales y las suspensiones groseras o emulsiones. Es frecuente delimitar el estado coloidal de las suspensiones groseras, tomando como límite inferior para éstas, la visibilidad al microscopio ordinario, que corresponde a un diámetro de unas 0,1 μ (μ = micra = 1 milésima de milímetro) ; llamándose *micrones* las partículas de 0,1 μ de diámetro, o más, visibles al microscopio. Con partículas por debajo de estas dimensiones se entra ya en el estado coloidal ; las partículas de esta clase, visibles en gran parte al ultramicroscopio, se llaman *ultramicrones* y su límite inferior puede considerarse como alrededor de 0,001 μ, esto es, de una milésima de micra (o *micromicrón* ; que se escribe : $\mu\mu$). Así se llega a las dimensiones moleculares comunes, aunque existen moléculas de substancias orgánicas bastante mayores, para las cuales la dispersión molecular entra ya en los límites de las características coloidales ; prescindiendo de las albúminas, también el almidón tiene moléculas de 5 $\mu\mu$ (= 0,005 μ). Las partículas de dimensiones inferiores a 1 $\mu\mu$ son invisibles por todos los medios y se llaman *amicrones* ; en esta categoría se incluyen las moléculas de varias substancias orgánicas (el cloroformo tiene las moléculas de un diámetro de 0,8 $\mu\mu$; el agua —sea dicho para la debida comparación — tiene las moléculas de 0,1 $\mu\mu$) de las sales, etc. El estado coloidal corresponde, pues, al grado de dispersión que se encuentra en la zona de los ultramicrones.

Tendremos en resumen el siguiente cuadro :

	Nombre de las partículas	Dimensiones de las partículas
Suspensiones y emulsiones	Micrones	0,1 μ o más
Coloides (como soles coloidales, pseudosoluciones, etc.)	Ultramicrones	0,1 μ — 1 $\mu\mu$
Soluciones verdaderas	Amicrones	< 1 $\mu\mu$

Pero es necesario repetir que las diferencias entre estos tres tipos de subdivisión o dispersión de una substancia en el seno de otras no tienen nada de absoluto : en efecto se ha llegado con medios físicos a demostrar una cierta separabilidad del cuerpo disuelto y del disolvente hasta en soluciones de cristaloides típicos ; así, por ejemplo, se ha logrado producir en soluciones azucaradas una concentración dis-

tinta por medio de una centrifugación enérgica. Las soluciones coloidales poseen una *presión osmótica mínima* : como el material disperso consta de agregados más o menos grandes de varias moléculas, es natural que la movilidad y la energía cinética de éstos sean menores que en las moléculas pequeñas ; de lo cual se deduce que están bastante reducidas las propiedades que, en las soluciones verdaderas, son efecto de la energía cinética molecular y de un modo especial la presión osmótica. El material disperso en estado coloidal es, por consiguiente, *poco difusible*, así como no atraviesa membranas animales fácilmente permeables para las pequeñas moléculas. Se llama *diálisis* al proceso de difusión modificada, que consiste en la fácil migración de las moléculas y iones de una solución, a través de una membrana animal (por ejemplo, la vejiga de los peces) que evidentemente posee poros ampliamente permeables para las moléculas y iones ; así cuando la disolución de un material en solución verdadera está separada del agua pura por medio de una de estas membranas, el cuerpo disuelto se difunde libremente en el agua casi como si la membrana no existiese. Pero, por el contrario, esta membrana retiene los ultramicrones (otros les llaman también *micelas)* de un coloide, por lo cual la diálisis es un medio excelente para separar un coloide mezclado con un cristaloide, o solución verdadera, ya que el último pasará a través de la membrana mientras que el coloide permanecerá dentro del dializador (que en el caso más sencillo puede estar formado por una bolsa de vejiga de pescado bien lavada o por unos saquitos de colodión endurecido en agua, en los que se coloca el material que se quiere dializar y se sumergen después en agua pura corriente).

Pero no hay que creer que, desde el punto de vista de la energía cinética molecular, existe un límite franco entre las soluciones coloidales y las soluciones verdaderas : cuanto más pequeños son los ultramicrones del coloide y más se acercan a los amicrones, tanto más se acentúan las propiedades que dependen del movimiento molecular : difusibilidad, presión osmótica, etc. Además, en los coloides con ultramicrones más grandes y hasta en las suspensiones verdaderas (aun de cuerpos relativamente grandes, como las bacterias) se ha observado desde hace tiempo una forma de rápida movilidad vibratoria de las partículas que se llama *movimiento browniano*, que no es más, por decirlo así, que una ampliación del movimiento de las moléculas. PERRIN ha podido, estudiando el movimiento browniano al microscopio, o al ultramicroscopio, reducirlo a las leyes de la cinética molecular, derivando de estas leyes interesantes confirmaciones, deducidas por ejemplo del estudio de los gases.

Como las soluciones coloidales típicas no están molecularmente dispersas, no tienen una acentuada presión osmótica (por lo cual el punto de congelación es casi el mismo que el del disolvente) y, a causa de no contener iones, no conducen la electricidad.

Las singulares propiedades que poseen los coloides (que, como dice GRAHAM, forman un mundo aparte) se deben en gran parte al enorme

desarrollo de la superficie de contacto entre las dos fases : para subdividir finamente un material cualquiera es necesario emplear una cierta energía ; ahora bien, en el estado coloidal encontramos en cierto modo aprisionada esta energía, que ha sido empleada para aumentar en tan alto grado la superficie y que se llama *energía superficial*. Veamos, por ejemplo, lo que pasa con la espuma, que como un coloide verdadero es un sistema bifásico (aire como medio disperso ; líquido — por ejemplo, solución jabonosa — como medio continuo, constituyendo el sistema de láminas que separan las burbujas de aire) : si tenemos una solución jabonosa y queremos que produzca espuma, debemos batirla fuertemente. ¿A dónde va el trabajo empleado en esta operación? Prescindiendo del que se ha invertido en vencer adherencias, etc., la mayor parte queda como energía potencial de superficie, incluída en la espuma misma. Piénsese en que un cubo que tenga 1 cm. de lado y por lo tanto una superficie de 6 cm. cuadrados, da, subdividido en cubitos de 0,01 μ (= 10 $\mu\mu$) de lado, unos 10^{18} de estos cubitos con una superficie total de 600 metros cuadrados. La energía de superficie crece con la subdivisión de una materia, proporcionalmente al aumento de superficie y por esto alcanza valores elevados en los coloides.

Toda energía es el producto de dos factores : capacidad e intensidad. La energía potencial de una masa de agua contenida en un depósito de cierta altura, es igual al producto de la masa de agua (factor capacidad) por la altura del desnivel (factor intensidad) ; así, la energía de superficie viene dada por el producto de la superficie (factor capacidad) por un cierto factor de intensidad que varía para las diversas substancias y que se llema tensión superficial. Esta tensión superficial, no es más que aquella fuerza de que hemos hablado, llamándola presión interna (pág. 8) de los líquidos : las moléculas, por ejemplo de agua, se atraen fuertemente entre sí y esta atracción se ejerce en todos sentidos sobre cada molécula de la masa líquida. Sólo las moléculas de la capa líquida en contacto con otra fase (por ejemplo, con el aire en la superficie libre del líquido, o con las paredes del recipiente) son atraídas en una sola dirección, precisamente hacia el interior de la masa líquida, faltando en aquella capa de moléculas la atracción hacia el lado, que podríamos llamar externo, de la masa líquida. La capa limitante de un líquido posee, pues, una característica física especial, comportándose aproximadamente como una especie de lámina elástica que revistiese la masa líquida, obligando a ésta a tomar una forma compatible con el mínimo de superficie. En efecto, todos los líquidos no sujetos a fuerzas extrañas que los deformen, tienden a tomar la forma esférica (gotas). Pero la tensión superficial existe no sólo para los líquidos, sino también para los sólidos, aunque contrarrestada por otras fuerzas moleculares. Sea como fuere, en los coloides nos encontramos con esta ley : el coloide contiene en sí una gran energía de superficie y en el límite de separación del material disperso con el medio dispersante actúa una tensión superficial que obra en el sen-

tido de una tendencia constante a la reducción de la misma superficie limitante. ¿Cómo puede reducirse en una solución coloidal o en una suspensión o emulsión, la superficie de separación entre el material disperso o emulsionado y el dispersante? Con la agregación de partículas, micrones o ultramicrones, cada vez mayores, esto es con la reducción progresiva de la dispersión, hasta llegar a una superficie reparante mínima, que sería el plano que limitaría las dos capas en que se habrían aglomerado ambos materiales. Tomemos aceite y agitémoslo con agua: se forma una emulsión de gotitas de aceite en la fase acuosa, pero dejémoslo un rato en reposo y veremos que el aceite y el agua tienden a separarse, confluyendo las gotas de aceite unas con otras hasta llegar a formar una capa de aceite encima de otra de agua. Esto que aquí sucede rápidamente, ocurre con lentitud, quizás de una manera imperceptible pero continua, en todos los coloides. En virtud de la tensión superficial los coloides son más o menos *lábiles*, en el sentido de que tienden a la agregación de las partículas en masas mayores, hasta llegar a la floculación completa. Los coloides orgánicos no se sustraen a esta ley: los coloides *envejecen*, es decir, que a medida que transcurre el tiempo aumentan de edad, y es por esta razón físico-química que el organismo, constituído por coloides, envejece a su vez. En el fondo —como observa muy bien SCHADE en su excelente obra (1) —el estado coloidal puede considerarse como algo transitorio, como un estado intermedio entre el de solución verdadera y el de sólido cristalino. En realidad, muchas substancias, consideradas como cristaloides pasan fugazmente al cristalizar sus soluciones, por un estado (microheterogéneo) coloidal; así pasa, como ha demostrado el mismo SCHADE con el ácido úrico, los uratos y la colesterina, en cuyas substancias puede conseguirse prolongar y hacer evidente el estado coloidal con artificios especiales. Algunas substancias, como las materias proteicas, tienen tendencia a permanecer casi constantemente en este estado, que es, por decirlo así, el preferido, pero no sin que, aun en ellas, se observe una aproximación lentamente progresiva hacia un estado de ulterior agregación micelar y casi de solidificación cristalina: los *biocoloides* llevan en sí mismos la causa de la muerte, porque la vida sólo es compatible con el estado coloidal.

Los coloides presentan fenómenos eléctricos importantísimos: así como las paredes de un recipiente adquieren una carga respecto al líquido en ellos contenido y del mismo modo como, en general, se desarrolla una diferencia de carga eléctrica respecto de cada superficie de contacto entre medios diversos, se ha visto que las partículas de una suspensión se cargan, respecto al líquido, y que la fase dispersa de un coloide adquiere una carga contraria a la continua. Las micelas coloidales o ultramicrones tienen, pues, una carga eléctrica, que puede ser positiva o negativa según los coloides, pero que tiene siempre el

(1) *Physikal. Chemie in d. inner. Med.*, 3.ª edic., Steinkopf, 1923.

mismo signo para todas las partículas de cada coloide, a la cual debe corresponder una carga de signo contrario en la capa perimicelar del disolvente.

¿Cómo se explica la carga de las partículas coloidales?

PAULI, según las ideas aceptadas recientemente (1), admite que cada coloide (como también los soles metálicos) está constituído por partículas neutras y una porción *ionógena*, y que los iones de esta porción ionógena se disponen alrededor de las partículas neutras, agrupándose los iones de un mismo signo para comunicarles sus propias cargas, mientras que los de signo opuesto permanecen en la fase continua alrededor del complejo precedente. Así, el hidrato coloidal de hierro (antídoto empleado con éxito en las intoxicaciones por al As) contiene partículas formadas por moléculas de $Fe(OH)_3$ en número de 30 a 130 y por 2-6 moléculas de un producto intermedio de hidrólisis, que no falta nunca ni aun en las soluciones más puras de FeOCl o cloruro de ferrilo; la micela neutra así constituída está provista de una corona de iones positivos $FeO^{\cdot}$ que le comunican carga positiva, mientras que los iones negativos Cl' permanecen en el agua. En este caso la porción ionógena es un producto de hidrólisis de la substancia en estado coloidal, el cual rodea de iones + a las partículas que adquieren carga +, mientras que los negativos constituyen la capa neutralizante perimicelar. Son interesantes estas ideas, porque extienden a los coloides inorgánicos la concepción de la ionización parcial, ya admitida para las proteínas y los biocoloides en general.

No podemos entretenernos en profundizar estas ideas. Contentémonos con recordar que los coloides se llaman electronegativos o electropositivos según el signo de la carga de sus partículas, el cual se reconoce por el sentido de la *conversión*, *transporte* o *cataforesis* de aquellas partículas en el campo eléctrico: puesto el coloide entre dos electrodos, las partículas pueden dirigirse hacia el ánodo (cataforesis anódica: coloide electronegativo) o al cátodo (cataforesis catódica: coloide electropositivo), conforme a la conocida ley que rige también la migración iónica, según la cual las cargas de signo opuesto se atraen.

He aquí una lista útil de coloides clasificados según su carga respectiva:

Coloides electronegativos (que se dirigen al ánodo)

Metales coloidales (adviértase que los metales en estado iónico son, por el contrario, electropositivos).	Hemoglobina pura.
Eosina, índigo, etc.	Fosfátidos.
Sulfuro de arsénico.	Goma arábiga.
Sulfuro de antimonio.	Glucógeno y almidón.
Proteínas en solución alcalina y también muchas de ellas en solución neutra.	Acido nucleínico.
	Acido silícico coloidal.
	Jabones.
	Azufre.

(1) *Klin. Woch.*, 1924, n. 1.

Coloides electropositivos (que van al cátodo)

Hidrato coloidal de hierro. Histonas y protaminas proteínas de carácter fuertemente básico).	Proteínas en solución ácida (véase más adelante). Colores básicos de anilina (azul de metileno, violeta de metilo, etc.).

Entre las suspensiones verdaderas de partículas relativamente groseras, recordemos las de glóbulos rojos, bacterias, carbón animal y kaolín que presentan conversión anódica de las partículas en suspensión (por lo cual los hematíes, bacterias, etc., en suspensión en el plasma o en solución fisiológica emigran hacia el ánodo y, por lo tanto, son electronegativos). Por el contrario, los leucocitos adquieren carga positiva (migración catódica) : quizás no deje de tener interés esta comprobación de que las bacterias tienen una carga opuesta a los leucocitos, para la explicación de los fenómenos de fagocitosis.

La carga eléctrica de las partículas coloidales obra como fuerza antagónica de la tensión superficial : ésta obligaría a las partículas a agregarse para reducir la superficie, mientras que la carga de igual signo propia de las partículas las obliga a repelerse recíprocamente y, por lo tanto, obra en sentido dispersivo.

El estado de un coloide se encuentra influenciado en todo momento por la acción antagónica de estas fuerzas físicas y es determinado por ellas. Así, todos los agentes que modifican la carga eléctrica de las partículas tienen influencia sobre la dispersión, elevándola o reduciéndola según que aumente o disminuya dicha carga. La dispersión de los coloides es especialmente modificada por los iones, pues, al estar dotados de carga eléctrica, pueden obrar sobre este importante factor del estado coloidal. Así, muchísimos coloides son floculados al añadir electrólitos, los cuales obran principalmente modificando la carga de las partículas coloidales (sucede esto de preferencia en los coloides que llamaremos suspensoides) : en el caso de un coloide positivo tiene importancia el anión del electrólito, mientras que en el caso de un coloide negativo (de conversión anódica) es el catión ; la causa consiste en la disminución de la carga o en la descarga total que el ion de signo contrario produce en las partículas del coloide sobre el que se fija, de modo que éstas se repelen menos o nada y, obedeciendo a la fuerza de la tensión superficial, se agregan y forman copos cada vez mayores, los cuales deben acabar obedeciendo a la gravedad y precipitándose : se llama *regla de* HARDY la que establece que cada coloide es floculado por el ion de carga opuesta. A una razón electrofísica parecida se debe otra ley que dice que *los coloides de carga opuesta se floculan y viceversa* ; sin embargo, pueden darse casos de precipitación recíproca de coloides que no entran exactamente dentro de esta ley. Se han elaborado varios métodos de uso bioquímico muy importante, basados sobre la floculación recíproca de los coloides y sobre la floculación de coloides por los electrólitos (así la desalbuminación o precipitación de las proteínas del suero de la sangre por medio del hidrato coloidal de hierro o el mástic).

Entre los iones que tienen mayor actividad sobre los coloides recordemos el OH' y el $H^{\cdot}$; en general, los hidroxiliones obran sobre muchos coloides y en especial sobre los coloides orgánicos, aumentando la dispersión, y los hidrogeniones, reduciéndola, o sea que los primeros tienen acción solubilizante y los segundos precipitante. También los iones salinos tienen importancia y para ellos se ha establecido la notable ley o *regla de* SCHULZE, que dice que la acción precipitante es proporcional a la valencia, de modo que un ion trivalente como el $Al^{\cdot\cdot\cdot}$ precipita más que uno bivalente como el $Cu^{\cdot\cdot}$ y éste más que uno monovalente como el $Na^{\cdot}$: en realidad la valencia está en relación con la carga eléctrica y se comprende que los iones de mayor carga actúen más enérgicamente (es decir, que se obtenga igual efecto con menor cantidad de ellos) que los iones con carga menor si se recuerda que la acción de los iones consiste en la cesión de su carga eléctrica a las partículas dispersas con la consiguiente neutralización de la carga de signo opuesto que éstas ofrecen y que contribuye a mantenerlas suspensas y distintas entre sí.

Pero además del signo de la carga (regla de HARDY) y de su cantidad (regla de SCHULZE) tiene también importancia, para explicar la acción de los iones sobre los coloides, la tenacidad con que el ion retiene la carga : sabemos que hay iones (esto es cierto principalmente para los metales) que tienen facilidad para ceder su carga, de modo que el ion deja de existir como tal, transformándose en molécula que se deposita con facilidad en la solución, mientras que otros iones tienen mayor tendencia a permanecer en estado iónico y en este caso el metal tiende, aun desde el estado sólido, a pasar en soluciones y ionizarse, adquiriendo una carga que, tratándose de metales, es positiva. Si sumergimos una lámina de zinc (Zn) en una solución diluída de $ZnSO_4$ (Sulfato de zinc) veremos que hay moléculas de Zn que pasan a la solución como zinc-iones con carga positiva doble (iones bivalentes), abandonando la lámina que, por lo tanto, adquiere carga negativa, y este proceso sigue hasta que en la solución se llega a una presión osmótica capaz de contrarrestar la *tensión de solución* o tendencia del metal a ionizarse. Lo contrario sucede si en una solución de sulfato de cobre ($CuSO_4$) sumergimos una lámina de cobre metálico : este metal, al contrario del Zn, tiene escasa tendencia a la ionización, tiene poca tensión de disolución y por lo tanto no veremos al metal abandonar la lámina y disolverse, sino al contrario veremos que se deposita metal sobre la lámina, porque los Cu-iones de la solución pasarán a moléculas de Cu, cediendo a la lámina su doble carga positiva. En efecto, si sumergimos una lámina de Zn en una solución de sulfato de Zn y una lámina de Cu en una solución de sulfato de Cu, veremos que el Zn se carga negativamente y el Cu positivamente y, si las soluciones están separadas por un tabique poroso y las láminas unidas por un hilo metálico, tendremos la *pila de* DANIEL, en la cual la corriente va desde el Cu (polo +) al Zn (polo —) por fuera de la pila y del Zn al Cu por dentro de ella. Todos los metales pueden

ordenarse en la llamada *serie electroquímica* según su mayor (metales innobles) o menor (metales nobles) tensión de disolución. La acción sobre muchos coloides del organismo se ha visto que estaba también relacionada con la posición de los metales en esta serie, por lo cual encontramos interesantes paralelismos, por ejemplo entre toxicidad y tensión de solución siendo más tóxicos para muchos medios orgánicos (esto es, más alterantes de sus coloides) los metales con menor tensión de disolución, es decir, aquellos que permanecen menos fácilmente en estado iónico, pero que cuando lo adquieren, tienden a ceder la carga eléctrica de que están provistos, con las consecuencias ya descritas, aunque no todas estén todavía bien aclaradas.

Al tratar de las proteínas veremos que hay una regularidad de acción de ciertos iones que no está bien explicada aún en su esencia, sino que debemos contentarnos con tenerla en cuenta y confirmar su aplicación, con frecuencia brillante, a los biocoloides *(serie de* HOFMEISTER).

Las moléculas de las soluciones de no electrólitos tienen generalmente una acción más débil sobre los coloides, que los electrólitos con sus iones, pero los no electrólitos también pueden modificar ciertos coloides (por ejemplo, la urea aumenta la permeabilidad de las membranas animales).

De todo lo dicho resulta que los coloides del organismo, de la misma manera que todos los demás pueden ser influenciados en dos sentidos : aumentando o disminuyendo su dispersión ; SCHADE (1) habla de modificaciones en sentido *soloide* y en sentido *geloide* e intenta establecer los fundamentos de una verdadera patología coloidal y molecular. Realmente, muchísimos procesos patológicos pueden *describirse* como modificaciones coloidales en una u otra dirección, pero no siempre nos da ésto la explicación clara de las alteraciones morbosas, aunque nos ayude a comprenderlas en los casos más sencillos, como en los de la acción del calor, de los ácidos y bases sobre los tejidos, etc.

Los coloides presentan frecuentemente el fenómeno llamado de *adsorción* ; en su forma más sencilla es un fenómeno físico en el que entra en juego la energía de superficie. Se ha observado que varias soluciones, tanto en el estado iónico, como en el molecular y en el coloidal, tienden a adquirir una concentración no perfectamente uniforme en toda su masa líquida, en el sentido de que se concentran más o menos en las capas que separan el líquido de otros cuerpos de estado físico diferente (o *fases)*, como por ejemplo, en la capa superficial en contacto con el aire, o con otro gas cualquiera, de los líquidos con superficie libre, o en la capa que está tocando a las paredes del recipiente. Según el *teorema* de GIBBS, las substancias que, al ser disueltas, disminuyen la tensión superficial del disolvente tienden a concentrarse precisamente en las superficies limitantes, mientras que las substancias que elevan esta tensión, presentan una concentración

(1) Op. cit.

menor en sus superficies limitantes. Ahora bien, exceptuando algunos escasos cuerpos, la mayor parte de las substancias que tienen importancia biológica, así como también la mayoría de las materias colorantes, etc., disminuyen más o menos notablemente la tensión superficial del agua ; de esta manera obran preferentemente las proteínas y sus productos de desintegración, los jabones, varios lipoides, etc. Así, pues, encontraremos estas substancias más concentradas cerca de la superficie limitante de la solución que en el resto de la masa de la misma : este es en esencia el fenómeno de la *concentración superficial*, que por decirlo así encontramos agrandado en las soluciones de proteicos (pseudo-soluciones) que poseen una pelícu a de proteína coagulada o condensada en la superficie, como por ejemplo, la película que se forma encima de la leche. Este fenómeno tiene una aplicación mucho más general y se presenta hasta en los gases, que ya sabemos que se condensan sobre las superficies líquidas o sólidas hasta adquirir, como sobre la superficie ampliamente desarrollada de la esponja de platino, una concentración y unas propiedades reactivas peculiares.

Recordando la definición de los coloides, vemos que están compuestos por una fase dispersa dentro de otra continua, esto es, como por una suspensión finísima de un material en el seno de otro y ya se ha dicho que en realidad no hay un límite claro entre las suspensiones y los verdaderos coloides : unas y otros presentan una enorme superficie de separación entre las dos fases. Si pues, en la fase continua, en el líquido de suspensión o en el disolvente, se encuentran moléculas, iones o partículas coloidales de substancias que tienden a disminuir la tensión superficial y por lo mismo a concentrarse en la superficie, observaremos que estas substancias se concentrarán precisamente alrededor de las partículas de la fase dispersa : diremos, pues, que ésta (las partículas de la suspensión o emulsión o del coloide) ha adsorbido la substancia añadida al medio y encontraremos realmente que la ha apropiado en cantidad mayor o menor, según ciertos factores de que luego hablaremos. Un ejemplo clásico lo ofrece una suspensión finísima de carbón animal o de kaolín añadida a una solución acuosa de fucsina o de otro colorante ; agitando la solución colorante con el polvillo de carbón o de kaolín y dejándola después en reposo, veremos que el polvo se deposita (en el caso del kaolín, que antes era blancogrisáceo, se vuelve coloreado) y que la solución queda más o menos decolorada. ¿Qué ha sucedido? Teníamos un sistema heterogéneo : partículas de polvo de carbón o de kaolín (fase dispersa, sólida) en suspensión en el agua (fase continua, líquida), pero que además contenía en solución un colorante (que, tratándose de colorantes de molécula grande, tiene también propiedades coloidales). Las moléculas del colorante han ido a concentrarse rápidamente sobre la superficie de separación entre la solución acuosa y el polvo en suspensión, cada grano de polvo ha atraído alrededor de su superficie como una corona de moléculas de colorante y por esto, cuando el polvo se ha sedimen-

tado, ha arrastrado consigo una gran parte del colorante. La acción descolorante y desodorizante del carbón y de otras substancias finamente divididas, su acción antibacteriana y antitóxica (pueden ser adsorbidas también partículas gruesas, como bacterias y moléculas de venenos) tan utilizada en la terapéutica llamada adsorbente, se basan en este principio: según los trabajos de BILTZ (1), si el hidrato coloidal de hierro *(Liquor ferri dialysati)* obra como antídoto en los casos de envenenamiento por el arsénico, es porque tiene lugar un fenómeno de adsorción entre el coloide y el arsénico. En el ejemplo del carbón animal que adsorbe un color de anilina, se llama adsorbente al carbón y adsorbendo o adsorbido al colorante. Podemos observar los fenómenos de adsorción en coloides sobre otros coloides, en coloides sobre electrólitos (por ejemplo, sales), sobre disoluciones de no electrólitos, etc. Cuando un coloide adsorbe a otro, las partículas del primero vienen como a rodearse de una corona de partículas del segundo y entonces puede suceder que las propiedades del primer coloide queden como *enmascaradas* por las del segundo. Si, por ejemplo, el primer coloide es muy sensible a la acción floculante de las sales y el que rodea sus partículas y lo enmascara lo es menos, todo el complejo coloidal adquiere las propiedades del segundo coloide, se vuelve por lo tanto poco floculable y se dice que el segundo coloide ha obrado como *protector* o *estabilizador* respecto al primero. Así, las soluciones de metales coloidales, usadas también en Terapéutica, tan sensibles a la acción floculante de los más variados agentes y que hasta floculan por la simple conservación en ampollas, se preservan de una floculación precoz y se conservan con una altísima dispersión añadiéndoles gelatina u otro coloide menos sensible y por lo tanto estabilizador.

En la química de los coloides nos encontramos frecuentemente con el fenómeno de las *reacciones zonales*: supongamos un coloide que precipita a otro al que se añade en determinadas proporciones; una dosis mayor o menor puede carecer de acción precipitante o hasta actuar como disolvente. También en este caso intervienen los fenómenos de adsorción recíproca con efecto protector entre ciertas proporciones de reactivo, mientras que con otras predominan los fenómenos eléctricos de modificación de la carga (véase pág. 24) u otros fenómenos de efecto floculante.

Vemos, pues, que por adsorción se forman varios complejos moleculares, que se llaman *compuestos* o *combinaciones de adsorción*: encontraremos en Bioquímica numerosos e importantes ejemplos de esta clase de fenómenos. A diferencia de las combinaciones químicas no siguen la ley de las proporciones fijas, sino que tienen características propias, de las cuales la más importante es la de que con el aumento progresivo de la concentración del adsorbido no crece en proporción igual la cantidad adsorbida, sino en proporción menor, por

(1) *Ber. deutsch. chem. Gesellsch.*, 37, 9138, 1904.

lo cual *relativamente* se adsorbe más material en una solución diluída que en otra más concentrada. Si, por ejemplo, se estudia la adsorción del ácido succínico por el polvo de carbón se ve que este adsorbente extrae de una solución al 10 % de ácido una cantidad m de éste; si colocamos la misma cantidad de polvo de carbón en presencia de una solución al 20 % de ácido, esto es, doblemente concentrada, veremos que no ha sido adsorbida una cantidad doble, esto es, 2 m, sino *menos*, precisamente una cantidad correspondiente a m multiplicada, no por 2, sino por cierta raíz de 2, esto es $\sqrt[n]{2}$, o sea $m \cdot 2^{1/n}$, siendo el valor de n diferente para las diversas substancias.

Débese particularmente a H. FREUNDLICH, el desarrollo matemático de la teoría de la adsorción (1), pero nos contentaremos con hacer notar la ley fundamental de que con el crecimiento de la concentración del adsorbendo la cantidad adsorbida crece en sentido absoluto, pero decrece en el sentido relativo, por lo cual, mientras de una solución diluída de substancia fácilmente adsorbible puede extraerse una cantidad determinada de esta substancia, la cantidad extraída de otra solución más concentrada es relativamente menor. Es necesario también hacer notar la diferencia, desde este punto de vista, entre estos fenómenos de adsorción y la simple repartición de un cuerpo disuelto dentro de un disolvente, porque existen en Biología numerosos casos en los cuales puede discutirse si un proceso dado corresponde a uno u otro orden de fenómenos. Imaginemos una emulsión finísima, un coloide emulsoide (véase más adelante: es una especie de emulsión porque se trata de un coloide con partículas flúidas o semiflúidas, empapadas de agua y dispersas en un medio acuoso), una suspensión de células animales (glóbulos rojos) o vegetales (bacterias) que podremos también considerar como emulsión, por ser el protoplasma un material dotado de notable fluidez: si encontramos que las gotitas de la emulsión, el coloide o las células en suspensión, retienen una substancia cualquiera, podremos admitir tres posibilidades:

1.° *La combinación química*: en tal caso la fijación tiene lugar según proporciones definidas; la cantidad que se fija está en relación con la cantidad absoluta de la substancia puesta en presencia del emulsoide, del coloide o de las células más que con su concentración, a pesar

(1) La fórmula de FREUNDLICH es $\frac{x}{m} = a \cdot C^{1/n}$, donde x es la cantidad de material adsorbido por la superficie m y por lo tanto sustraído al líquido, cuya concentración final es C; a y n son dos constantes variables para cada adsorbente y adsorbido; la temperatura se supone constante, por lo cual aquella fórmula se llama la *isoterma* de la adsorción. El valor de n está comprendido generalmente entre 2 y 10, por lo cual $1/n$ oscila entre 0,5 y 0,1. La fórmula es la de una curva parabólica e impropiamente se dice que la adsorción está expresada por una curva exponencial, no siendo una variable la que hace de exponente en la fórmula (por el contrario, se llama curva exponencial aquella que tiene una de las variables como exponente). La fórmula expresa claramente que la cantidad adsorbida (por unidad de superficie) no crece en proporción lineal con la concentración del adsorbido, sino que aumenta *con más lentitud* que ésta.

de que la velocidad de la reacción también esté relacionada con la concentración.

2.° *La adsorción* : la fijación no tiene lugar según proporciones definidas, sino que depende de la concentración de la substancia adsorbente según la ley exponencial ya citada, o sea — en palabras más claras — que no existe una relación sencilla entre la cantidad adsorbida y la de substancia adsorbente aún libre. Otras características del fenómeno de la adsorción son : *su reversibilidad* (si se pone en contacto con agua pura el carbón que ha adsorbido la fucsina, el carbón vuelve a ceder el colorante al agua), con lo cual se establece un verdadero *estado de equilibrio* entre la substancia aún libre y la substancia adsorbida ; *la rapidez, pero no instantaneidad*, de la reacción (media o una hora bastan para alcanzar el estado de equilibrio, o sea, para que el adsorbente fije toda la cantidad que puede admitir de solución de substancia adsorbida) ; *el coeficiente térmico negativo*, esto es, la proporcionalidad inversa entre la temperatura y la intensidad del proceso de adsorción (la adsorción se va haciendo cada vez menor al aumentar la temperatura).

3.° *La repartición del cuerpo disuelto entre dos disolventes* : las partículas dispersas de la emulsión o del coloide, las células animales o las bacterias pueden representar como un segundo disolvente, y la substancia puede ser puesta, por decirlo así, frente a la opción entre el disolvente de la fase externa, el agua, y el disolvente de la fase dispersa. ¿ Cómo se comporta un cuerpo soluble en dos disolventes no miscibles, puesto en contacto con ellos ? Se disuelve en uno y otro disolvente de la misma manera que un gas puesto en presencia de un líquido, se reparte entre el espacio sobrepuesto al líquido y el líquido mismo : sigue la ley que se llama *ley de los gases* de HENRY, según la cual la repartición de un gas entre la fase gaseosa y la líquida se verifica siempre siguiendo una relación constante ; o sea, que así como un gas se disuelve en un líquido de un modo directamente proporcional a la presión que tiene en el espacio sobrepuesto (por ejemplo, doblando la presión — que es comparable a decir la concentración — se duplica la cantidad disuelta), así un cuerpo disuelto en un líquido se disuelve en otro, puesto en contacto con el primero, en cantidad tal que siempre subsiste esta relación sencilla :

$$\frac{\text{concentración en un disolvente}}{\text{concentración en el otro disolvente}} = \text{constante.}$$

Esta constante se llama *constante de repartición* y la ley citada — esto es la *ley* de HENRY aplicada a las soluciones — se llama *ley de la repartición*. Aumentando la concentración en un disolvente debe aumentar proporcionalmente la concentración en el otro ; si por ejemplo ponemos yodo en presencia de tetracloruro de carbono y de agua, veremos que se disuelve mucha cantidad de aquella substancia en el primer disolvente y poca en el segundo, cumpliéndose la fórmula

$$\frac{C_{CCl_4}}{C_{H_2O}} = K,$$

en donde K es bastante mayor que la unidad, y *constante*, por lo cual si añadimos más yodo al tetracloruro de carbono para que aumente la concentración en él (esto es, C_{CCl_4}), también deberá crecer proporcionalmente (en sentido *lineal*) la concentración en el agua (C_{H_2O}), para que K permanezca constante.

He aquí, pues, la diferencia entre los fenómenos de adsorción y los de repartición : en los primeros se fija una cantidad de substancia disuelta *relativamente* menor, a medida que su concentración es más elevada ; en los segundos, un disolvente retiene una cantidad siempre igual del material disuelto en el otro disolvente.

Debemos hacer notar, sin embargo, que en el caso de repartición entre dos disolventes, la relación que existe entre las concentraciones en estado de equilibrio puede no ser lineal, sino exponencial, si el cuerpo presenta un estado de agregación molecular distinto en uno y otro disolvente : así poniendo ácido benzoico en presencia de benceno y agua, la concentración en el agua viene a ser igual a la raíz cuadrada de la concentración en el benceno, porque el ácido benzoico es bimolecular en solución bencénica.

En diferentes capítulos de la Biología veremos que se discuten estas tres posibilidades del mecanismo de la fijación, y alguna vez, como pasa en la desinfección, hallaremos ejemplos claros de cada uno de los tres casos : el formaldehido se agrega químicamente a los protoplasmas que contienen numerosas agrupaciones atómicas capaces de reaccionar con el grupo aldehídico COH ; el sublimado ($HgCl_2$) obra ionizándose, y los iones $Hg^{\cdot\cdot}$ que tienen acción desinfectante, parece que son adsorbidos por las células bacterianas, por lo menos en un primer tiempo y quizás combinándose después químicamente con las proteínas ; el ácido fénico se comporta siguiendo la ley de la repartición, siendo más soluble en el protoplasma bacteriano que en el agua, o sea, que respecto al sistema de disolventes $\frac{\text{protoplasma}}{\text{agua}}$ tiene un coeficiente de repartición favorable al primero. Vemos, pues, que el sublimado actúa aun en notable dilución, porque el proceso de adsorción en el cual intervienen las energías de superficie, enriquece las superficies celulares (bacterias) en iones mercúricos activos (aun cuando haya una concentración relativamente baja de ellos en la disolución) en virtud de la ley fundamental ya expuesta de que la adsorción es *relativamente* mayor en las soluciones menos concentradas ; por el contrario, el ácido fénico necesita estar más concentrado, para que — siendo constante la relación de repartición — adquiera una concentración suficientemente elevada en el otro disolvente, o sea, el protoplasma. Si disolvemos ácido fénico en aceite, se reduce muchísimo su poder desinfectante, porque el coeficiente de repartición

$\frac{\text{protoplasma}}{\text{aceite}}$ es bajo, es decir, que el ácido fénico se disuelve demasiado bien en el aceite, en comparación con el protoplasma.

Para terminar este resumen sobre la adsorción, diremos que, según muchos autores, no es un puro proceso físico, sino que intervienen en él fuerzas químicas *(valencias accesorias* o *residuales*, de lo que resultan quizás combinaciones moleculares, y orientaciones particulares de la materia adsorbida, como veremos que admite LANGMUIR para las substancias estratificadas sobre otras ; véase lo que se dice al tratar de los ácidos grasos). Unas veces se habla de *adsorción química*, para dar a entender que también entran en juego electividades químicas verdaderas y propias entre el adsorbente y el adsorbido ; así como se habla de *adsorción específica* cuando se observan afinidades especiales por las cuales un adsorbente fija de preferencia ciertas substancias y no se apodera o fija menos las otras. En las varias formas de adsorción electiva unas veces entran en juego afinidades químicas verdaderas y propias, mientras que en otros casos intervienen fuerzas eléctricas (un coloide electropositivo adsorbe preferentemente iones electronegativos u otro coloide electronegativo), pero no podemos detenernos sobre este punto. Es un hecho cierto que muchos de los procesos de adsorción que se estudian en Bioquímica son declaradamente electivos y puede aplicarse a ellos de una manera peculiar la explicación que actualmente muchos les dan : que un fenómeno de pura adsorción mecánica va seguido de la constitución de verdaderas trabazones químicas, por lo cual la fijación es sólo parcialmente reversible y únicamente al principio, ya que va seguida de una *consolidación secundaria*, como EHRLICH ha descrito para las toxinas respecto al protoplasma y como se observa en muchos procedimientos industriales de coloración (1).

Respecto a los fenómenos de tinción, debemos añadir que las coloraciones histológicas también se sujetan a estas leyes y que los colorantes pueden fijarse sobre los tejidos en virtud de uno de los tres procedimientos antes citados : la combinación química, la adsorción y la solución (a veces sólida), presentándose con frecuencia mecanismos complicados en los que cooperan más de uno de estos procesos elementales.

Los fenómenos de concentración superficial tienen un valor enorme en el desarrollo de muchas reacciones químicas y en la determinación de hechos biológicos. La adsorción de una substancia por las partícu-

(1) PAULI, resumiendo los trabajos y conceptos de la misma escuela *(Klin. Woch.*, 1924, n.° 1) dice que la adsorción es *siempre* debida a reacciones químicas entre adsorbente y adsorbido : en el caso del carbón vegetal, que adsorbe diversas substancias, nos encontramos con la formación de compuestos insolubles entre estas substancias y los productos de oxidación incompleta de la celulosa que se encuentran en la superficie de las partículas de carbón. Pero parece que no hay que exagerar tampoco en este sentido : muchas y muy variadas son las substancias adsorbibles por el carbón para que se trate solamente de combinaciones químicas.

las de un coloide, disminuyendo la concentración de ella en la masa del disolvente, puede favorecer notablemente la disolución, y así la presencia de coloides puede aumentar la solubilidad de cristaloides (o no coloides) y también puede impedir o retardar la precipitación de soluciones sobresaturadas. Ejemplo : el suero de la sangre disuelve mucho más ácido úrico que un volumen igual de agua o de solución salina que contenga exactamente las sales del suero, lo cual parece que es debido a una acción adsorbente de los coloides (proteínas) del suero. Por otra parte, ciertos coloides (como la mayor parte de los del organismo) son llamados *hidrófilos* (véase más adelante) porque poseen ultramicrones empapados de agua, que adsorben ávidamente : esta fijación de agua por las partículas coloidales tiene una acción claramente opuesta a la adsorción, pues, mientras ésta aumenta la solubilidad de una tercera substancia, privando de ella en cierto modo al medio interno, la imbibición acuosa de las partículas coloidales deja menos agua disponible para la disolución de la tercera substancia. En Biología encontramos muchos ejemplos de este fenómeno, que se puede resumir diciendo que la presencia de coloides, si bien facilita la disolución de las substancias poco solubles, muchas veces dificulta la disolución de substancias muy solubles en las condiciones ordinarias (BECHHOLD).

Entre los coloides, entre los coloides y los cristaloides, y especialmente entre los coloides y los iones, hay una especie de lucha para la conquista del agua, agente solubilizante general : de donde derivan influencias recíprocas y leyes de solubilidad que no se observan fuera del mundo de los coloides.

Pero la adsorción, o concentración en la superficie, de variadas substancias, tiene también un gran valor para acelerar ciertas reacciones químicas : recordemos el ejemplo clásico de la esponja de platino en la combinación de muchos gases y, en especial, del oxígeno y del hidrógeno para formar agua, y apliquemos este principio a los coloides en general y de una manera particular a los biocoloides, que podríamos comparar con una esponja de amplísima superficie adsorbente. Substancias que reaccionarían entre sí difícilmente o con extremada lentitud, reaccionan fácil y rápidamente cuando son adsorbidas al mismo tiempo por la superficie de una material fuertemente disperso y, en cierto modo, son puestas en íntimo contacto por esta concentración superficial, que con frecuencia obedece a las leyes de la especificidad relativa *(catalisis por adsorción)*. Veremos que hoy se tiende también a considerar con WARBURG, como un fenómeno de esta naturaleza, la oxidación de las substancias nutritivas que la célula realiza con sorprendente facilidad.

Coloides suspensoides y emulsoides : esta distinción importantísima se refiere a la relación entre el disolvente, o mejor dicho, tratándose de pseudosoluciones coloidales, entre el medio interno o continuo (agua) y las simples partículas del material disperso.

Los suspensoides, son verdaderas suspensiones de partículas sólidas que se diferencian de las suspensiones corrientes solamente por la extremada finura de las partículas : si tomamos como ejemplo una solución de oro coloidal, la veremos constituída por agregados plurimoleculares de moléculas metálicas en suspensión en el agua y estos agregados pueden ser tan pequeños que sean invisibles aun al ultramicroscopio y sólo pueden reconocerse con este medio óptico como una luminosidad difusa ; pero cada uno de estos agregados es en realidad *insoluble* en el agua, no adquieren relaciones con las moléculas del disolvente ni aún imaginándonoslas (y teóricamente es esto lo lógico) resueltas en moléculas sencillas. Por el contrario, los emulsoides presentan relaciones de afinidad (quizás entran en juego valencias accesorias) entre las simples partículas y el agua : las partículas del coloide, rodeadas de una esfera acuosa y también probablemente impregnadas de agua, están, como se dice, *hidratadas* ; así es que en definitiva el emulsoide es más parecido a una emulsión finísima que a una suspensión, en el sentido de que resulta formado por un material más o menos acuoso disperso en un medio también acuoso. En una solución concentrada de albúmina, como son generalmente los líquidos orgánicos circulantes, más de la mitad del agua está ligada a las micelas coloidales y no es agua libre del medio de dispersión. He aquí por qué los coloides suspensoides son llamados también *coloides hidrófobos*, mientras que los emulsoides se llaman *coloides hidrófilos*.

Esta diversidad de relaciones entre el agua y las partículas coloidales según se trate de suspensoides lleva en sí otra diferencia : los suspensoides no presentan ninguna influencia modificadora sobre los caracteres físicos propios del disolvente, siendo en esto iguales a las verdaderas suspensiones. Así, la tensión superficial de un suspensoide (por ejemplo de un metal coloidal) es igual a la del agua pura y lo mismo puede decirse de la *atracción interna o viscosidad*. Por el contrario, los emulsoides hacen bajar notablemente la tensión superficial (en efecto, una solución de albúmina — que es un sol típicamente emulsoide — produce espuma con facilidad, demostrando tener una tensión superficial baja, con lo cual se forman fácilmente y se conservan, por ser poco contráctiles, las laminillas líquidas entre las burbujas de gas) y por otra parte, elevan la viscosidad o atracción interna (las soluciones densas de albúmina son claramente viscosas, aun en el sentido vulgar de la palabra).

Estas modificaciones de las dos propiedades físicas de que tratamos, están también en relación con la hidratación de las partículas coloidales : efectivamente, las fuerzas atractivas que obran entre dichas partículas y las moléculas de agua, son las que atenúan la presión interna de ésta (que en la lámina acuosa periférica se manifiesta como tensión superficial) ; estas partículas cargadas de agua, que las rodea e imbibe, son las que pasan más difícilmente por los capilares del viscosímetro (la viscosidad se mide por el tiempo que una masa líquida determinada emplea para pasar por un capilar de cierto calibre) y,

al deslizarse con más dificultad unas sobre otras, son causa de que la viscosidad alcance valores elevados.

Los coloides de ambos tipos, hidrófobos e hidrófilos (algunos, extendiendo la denominación al caso de que se trate de coloides en disolventes distintos del agua, hablan de coloides liófobos y liófilos) se comportan diversamente respecto a varios agentes precipitantes : los hidrófobos o suspensoides son precipitables por concentraciones mínimas de electrólitos ; son pues sensibilísimos a la presencia de estos últimos y el precipitado es *irreversible*, es decir, que una vez constituída la agregación de las partículas (sobre todo en virtud de la reducción de la carga eléctrica debida al ion del electrólito, de signo contrario) no es posible hacerla regresar, ni aun eliminando el electrólito precipitante y no puede volverse a reproducir el primitivo estado de dispersión. Por el contrario, los coloides hidrófilos o emulsoides tienen mucha menos sensibilidad para los agentes floculantes, probablemente en virtud del estado de hidratación de las partículas, por lo cual éstas son más resistentes en el estado de dispersión por estar sostenidas y separadas por la corona acuosa ; el precipitado es frecuentemente *reversible* ; muchas veces (no siempre) tiene el carácter de un verdadero gel reversible, esto es, transformable en el estado de dispersión primitivo. Efectivamente, la precipitación de los emulsoides se hace por un verdadero proceso de deshidratación : puede suceder que el agua sea sustraída por la sal, de las partículas dispersas del coloide y que en resumen entren en juego aquellos fenómenos de concurrencia respecto al agua disolvente que ya hemos recordado y que se verifican entre los iones salinos y las partículas coloidales (cuando se trata de proteínas se ve que éstas, aun en el caso en que tengan claramente caracteres emulsoides, están ionizadas y que son los mismos iones proteicos los que se hidratan). El proceso de precipitación de los emulsoides necesita pues una alta concentración salina que provoque una amplia modificación en la repartición del agua, de donde el nombre de *salazón* (pintoresca versión del intraducible término alemán *Aussalzung)* dado a este proceso de precipitación de los emulsoides por medio de sales neutras a concentración alta. La masa más o menos sólida del precipitado así formado, una especie de gelatina, puede, readquiriendo simplemente el agua que la sal le ha sustraído, volver al estado de sol verdadero y propio. En los emulsoides no existen límites claros entre sol y gel, entre coloides del tipo de pseudo soluciones y coloides de apariencia sólida y por lo tanto con el máximo de atracción interna, porque la diferencia está sólo en la diversa repartición del agua entre las dos fases, y puede bastar simplemente el calor para transformar un estado en otro, por ejemplo, el gel en sol (gelatina, agar), El típico gel reversible, el coloide gelatinificado, está constituído por un sistema bifásico, con amplísimo desarrollo de láminas superficiales que podemos representar como un sólido de dos dimensiones (Mathews) porque las moléculas están sujetas en ellos a fuerzas diversas en los dos sentidos, interno y externo ; contienen relativamente poca

agua, por lo menos en una de las fases, la cual, por la fuerza contráctil (tensión superficial) de las formaciones laminares, tiende a ser exprimida del gel en cuestión (agua de condensación de los tubos de agar de bacteriología: llamada también *sinéresis* de los gels coloidales). Los coloides suspensoides son también llamados *irreversibles*, y los emulsoides *reversibles*, a causa de esta diferente manera de comportarse sus respectivos gels.

Tenemos, pues, las dos sinonimias siguientes (no absolutas):

Coloides suspensoides, hidrófobos, liófobos o *irreversibles.*

Coloides emulsoides, hidrófilos, liófilos o *reversibles* (*o gelificantes* porque forman *gels reversibles* como la gelatina verdadera).

En virtud de la adsorción recíproca, ciertos coloides de un tipo pueden enmascarar los de otro y así pueden obtenerse los fenómenos de estabilización o de labilización ya recordados, de los cuales veremos la gran importancia biológica.

Imbibición: los gels reversibles y también algunos irreversibles (como la fibrina, que es el producto de gelificación de una substancia proteica propia del plasma sanguíneo, es decir, de un emulsoide, y que no obstante es un gel irreversible) son capaces de adquirir agua, hinchándose notablemente; también puede observarse el proceso inverso de cesión de agua por parte del gel que se encoge por este mecanismo. En estos casos se habla de *imbibición* y de *desimbibición*. En el fondo es un proceso semejante a aquél, ya explicado, por el cual las partículas de un sol emulsoide fijan una gran cantidad de agua: las partículas del emulsoide se encuentran, pues, en un estado de imbibición y podremos decir que la precipitación por las sales neutras concentradas o salazón de las substancias proteicas, o de otros emulsoides, es un verdadero proceso de desimbibición de las partículas del emulsoide.

En la imbibición o *imbibición molecular*, entran pues en juego afinidades entre las moléculas de agua y las del material que se imbibe; tan cierto es esto, que unas substancias se imbiben más que otras y que los líquidos no acuosos las imbiben con electividad diversa: un trozo de gelatina desecada se imbibe fuertemente y se hincha en el agua y no en el éter, al contrario de lo que pasa con el caucho. Para estudiar la imbibición acuosa, son excelentes unos cubitos de gelatina que se pesan antes y después de la imbibición; también pueden emplearse trozos de fibrina y otros materiales, así como pedazos de órganos animales, en los cuales, sin embargo, los fenómenos de imbibición están perturbados por otros fenómenos de adquisición de agua. En resumen, un sólido puede adquirir agua:

1.° Por capilaridad o imbibición capilar: es decir, por penetración en los poros o espacios sutiles preformados (de donde previamente se expulsa el aire) por los cuales sube el líquido tanto más cuanto menor es su tensión superficial o atracción interna entre sus moléculas, y por lo tanto, cuanto mejor *moje* el líquido, esto es, cuanto más se adhiera al sólido;

2.° Por ósmosis: un sólido puede contener espacios llenos por soluciones más o menos concentradas (moléculas y iones); si estos espacios están cerrados por membranas semipermeables, de modo que el material disuelto no pueda difundirse hacia el exterior pero permitan la entrada del agua, ésta se incorporará por ósmosis;

3.° Por imbibición molecular: es el caso de los gels coloidales: el agua penetra en este caso por entre las partículas del gel, separándolas, porque la afinidad entre el gel y el agua es más fuerte que la cohesión mutua de las moléculas del gel; si hay mucha agua puede llegarse a la rotura de los lazos que unían entre sí las partículas coloidales y a la formación de un sol, como cuando disolvemos gelatina en agua, con la ayuda eventual del calor. En el fondo quizás no hay un límite claro entre el 1.er caso —imbibición capilar— y el 3.°: todo depende de la mayor o menor resistencia del sólido a dejarse distender, según que la afinidad de sus moléculas por el agua predomine más o menos sobre la cohesión de las moléculas entre sí. El ladrillo se imbibe por capilaridad pero no aumenta de volumen, sino que sólo deja penetrar el agua por sus poros preexistentes; los cubos de gelatina antes citados, nos proporcionan un caso típico de imbibición molecular, porque el agua penetra entre sus moléculas, las envuelve, las separa por lo menos en parte y tiende a distribuirse entre las dos fases, desviando al sistema hacia el estado de sol.

Hay *tres leyes fundamentales de la imbibición molecular:* 1.ª, que no es indefinida, sino que cada gel se imbibe hasta un máximo (que depende de varios factores: temperatura, presencia de sales, etc.) el cual es alcanzado rápidamente (tanto más cuanto menor es la masa que se imbibe: una masa del tamaño de un glóbulo rojo adquiere en un minuto el 98 % del agua total de imbibición); 2.ª, que el volumen total del cuerpo imbibido es menor que la suma del volumen inicial del cuerpo en cuestión y del volumen del agua fijada (es decir, que hay una contracción); 3.ª, que la imbibición es un proceso que se realiza espontáneamente con liberación de energía (calor), pudiendo producir un trabajo notable. Esta última ley es la más importante para el biólogo: se llama *presión de imbibición* a la presión ejercida por ciertos coloides que se imbiben. Esta presión puede ser enorme; recuérdese el clásico ejemplo de las semillas vegetales que, al hincharse, pueden romper vasijas de hierro.

La imbibición de los gels coloidales puede verificarse contra la presión osmótica: un coloide puede imbibirse de agua extrayéndola de una solución salina, realizando pues un notable trabajo de concentración respecto a ésta. La célula presenta ejemplos de todos estos procesos de fijación de agua. En otro tiempo no se daba importancia más que a los fenómenos de ósmosis, pero después se han descubierto procesos que iban contra las leyes de la ósmosis o que se verificaban sin la presencia de membranas osmóticamente activas (semipermeables), y se ha concedido mayor atención a los fenómenos de imbibición coloidal. Actualmente sabemos distinguir ambos procesos de fi-

jación de agua en el protoplasma y en las estructuras paraplasmáticas, las cuales frecuentemente no son más que gels más o menos rígidos, aun cuando no sea fácil averiguar en cada caso a qué mecanismo corresponde el papel principal.

El agua de imbibición coloidal es retenida con bastante tenacidad; tiene una tensión de vapor baja y por evaporación no se pierde más que después del agua de disolución. Pero con el transcurso del tiempo, las jaleas pueden desecarse, formando masas duras y compactas, susceptibles de volver a adquirir el estado primitivo si se les proporciona el agua necesaria. Existen también gelatinas irreversibles que quedan desnaturalizadas por la desecación y no vuelven ya a tomar el estado de gel verdadero y peculiar.

En el proceso de imbibición, tienen mucha importancia los electrólitos (sales, ácidos y bases), cuyos iones modifican cuantitativamente aquel proceso, unos favoreciéndolo a veces e impidiéndolo en otras. Los iones que, con su presencia en el agua, aumentan la imbibición del gel, favorecen en cierto modo la solución coloidal, constituyendo una transición continua desde el gel imbibido al sol más o menos disperso. Los iones que inhiben la imbibición o desimbibentes, son también iones precipitantes para los coloides hidrófilos; tienen, pues, una acción opuesta a la disolvente de los primeros. La acción de un electrólito, es en general igual a la suma algébrica de la acción de los iones que lo componen. Nos ocuparemos, a propósito de las proteínas, de los puntos más importantes referentes a esta importante cuestión. Por otra parte, junto con el agua de imbibición pasan frecuentemente al gel coloidal parte de los electrólitos de la solución con que están en contacto: se establecen así una especie de equilibrios complejos entre la concentración del electrólito en la fase dispersa del gel y la concentración del electrólito en la fase externa.

El llamado *equilibrio de* Donnan (1) adquiere cada día mayor importancia en Biología: se presenta cuando una membrana separa dos soluciones de electrólitos, una de un electrólito para cuyos iones la membrana sea permeable y otra de un electrólito tal, que *uno* de sus iones no sea capaz de atravesar la membrana. Es indiferente que el ion que no pueda atravesar la membrana, sea coloide (véase lo que se dice más adelante a propósito de la ionización de las soluciones proteicas) o cristaloide.

Se realiza experimentalmente este caso usando, como ha hecho Loeb (2), una membrana de colodión que separa una solución de HCl de otra de gelatina o albúmina clorhídrica con el mismo pH: el ion proteico de esta segunda solución no pasa por la membrana, mientras que los iones $H^{\cdot}$ y Cl' la atraviesan fácilmente. Sin embargo, este caso debe ocurrir con mucha frecuencia en el organismo y nos explica mu-

(1) Donnan y colaboradores: *Zeitschr. f. Elektrochemie*, vol. XVII; *Journ. chem. Soc.*, vol. XCIX y CXV: véase resumen elemental en Bechhold.
(2) *Journ. of. gener. Phys.*, vol. III.

chos fenómenos de importancia hasta ahora oscuros. ¿Qué es lo que sucede? Que el valor del pH no se mantiene constante, sino que, cierta cantidad de ácido es expulsada, por decirlo así, de la solución de gelatina hacia la solución clorhídrica acuosa (Loeb), o sea, que sólo se restablece el equilibrio cuando el pH ha disminuído en cierta cantidad en la solución acuosa respecto a la gelatinosa. Si se ha partido de un pH = 3,3 en ambos lados de la membrana, se llega al equilibrio cuando la solución de clorhidrato de gelatina tiene un pH = 3,5, para un pH = 3,0 en la solución acuosa.

En la teoría del equilibrio de Donnan entran muchos ejemplos que demuestran la repartición de los iones entre los dos lados de una membrana no igualmente permeable para todos. Esta teoría está relacionada con las leyes de la migración de los iones.

Un caso especial es el de la *hidrólisis con membrana*: cuando se interpone una m mbrana entre agua pura y una solución acuosa de una sal, uno de cuyos iones tenga dimensiones coloidales y no sea capaz de atravesar la membrana (como en el esquema siguiente en el cual la línea vertical es la membrana, R es el anión coloidal de una sal y Na el catión), tendremos los siguientes estados inicial y terminal:

RH NaOH	agua		RH	agua Na OH
Estado inicial			Equilibrio final	

Al principio se observa, pues, la disociación hidrolítica de la sal, por la cual se forma el ácido RH y la base NaOH; finalmente encontramos que el ácido a causa del anión R coloidal no ha podido atravesar la membrana, al contrario de lo que pasa con la base cristaloide, o por decirlo mejor, con los dos iones $Na^{\cdot}$ y OH' que forman una solución de NaOH al otro lado de la membrana. Si se renueva el agua, puede emigrar toda la base procedente de la hidrólisis de la sal, pudiendo quedar de un lado el ácido solo y del otro, la base.

También pueden ser disociados los ácidos y bases fuertes por la acción de una membrana, si uno de los iones es un coloide para el cual ésta es impermeable.

Esta teoría explica varios fenómenos biológicos: la secreción de jugos fuertemente alcalinos (jugo pancreático) a partir de la sangre neutra, o de jugos exageradamente ácidos (jugo gástrico) a partir de la misma. Por este mecanismo también puede separarse una orina ácida del plasma sanguíneo neutro.

Recordemos que la diferencia de concentración iónica restablecida por el equilibrio de Donnan, puede dar lugar al desarrollo de fuerza electromotriz, calculable por la fórmula de Nernst, lo cual puede también verificarse en el organismo.

Según Loeb, debería recurrirse a la ley del equilibrio de Donnan (1) para explicar el comportamiento de las soluciones proteicas

(1) Véanse últimos años del *Journ. of. gen. Phys.*

respecto a los electrólitos, pero no podemos detenernos sobre este punto.

Recientemente LEHMANN y MEESMANN (1), creen que puede aplicarse esta ley para explicar la *composición normal y patológica del líquido céfalo-raquídeo y del humor acuoso* : son líquidos más ricos que la sangre en ciertos aniones (Cl-iones, OH-iones) y pobres en ciertos cationes (Na-iones, y H-iones) ; por otra parte, están casi exentos de proteínas (que en la sangre se encuentran en estado de aniones coloidales). Pueden considerarse como separados de la sangre por una membrana casi impermeable a los coloides y permeable a los iones salinos.

(1) *Klin. Woch.*, 1924, n.° 23.

CAPÍTULO IV

Combinaciones del carbono. Consideraciones generales. Asimetría molecular

Junto con el agua, de que hemos hablado, y de las sales minerales de que hablaremos, se encuentran en los organismos vivientes variadas *combinaciones del carbono*, precisamente aquellas que, por una antigua costumbre, se han llamado « combinaciones o compuestos orgánicos », habiéndose dado también el nombre de Química orgánica a la parte de la Química que se ocupa de su estudio.

Estos compuestos están claramente repartidos en dos grandes grupos denominados serie grasa y serie aromática, según que los átomos de carbono formen una cadena abierta o cerrada.

Modernamente se prefiere hablar de *serie aciclica* (compuestos con cadenas abiertas) y de serie *cíclica* (compuestos por cadenas cerradas o anillos). De todos modos, el carbono tiene una aptitud peculiar para formar compuestos moleculares en los cuales los átomos de C saturan mutuamente parte de sus valencias : los químicos dicen que el carbono se caracteriza efectivamente por la *constancia de su valencia* y por tener tendencia a formar *compuestos homopolares*, esto es, compuestos en los cuales los átomos de cada molécula no ofrecen diversa polaridad unos respecto a otros y no se dejan diferenciar en electropositivos y electronegativos (por el contrario, son *heteropolares* muchos compuestos de la Química inorgánica, como las sales, los ácidos y las bases, cuya molécula puede ser dividida según una determinada polaridad.

El organismo animal se diferencia del vegetal porque el primero posee mucha menos capacidad para formar cadenas cerradas de átomos de carbono. Efectivamente, el organismo animal adquiere muchos compuestos cíclicos del reino vegetal, y luego los modifica o utiliza para construir combinaciones moleculares más elevadas.

Entre los compuestos cíclicos podemos distinguir aquellos en los cuales el anillo atómico fundamental es el del benceno (C_6H_6), o sea, un anillo con seis átomos de C : estos compuestos son los llamados *isocíclicos* o *carbocíclicos* ; hay otros que presentan anillos variados

con cinco, seis o más miembros, constituídos no sólo por átomos de C, sino también por otros elementos encadenados con el C para formar el anillo : O, S, y especialmente N : éstos son los llamados compuestos *heterocíclicos* (núcleo del pirrol, de la pirimidina, de la piridina, del furano, etc.).

Los compuestos del carbono existentes en el organismo animal se pueden, pues, distribuir según el siguiente esquema :

Serie acíclica —
Serie cíclica { isocíclica o carbocíclica
heterocíclica.

Sin embargo, es tradicional clasificar los componentes orgánicos inmediatos del protoplasma en los siguientes grupos : *hidratos de carbono, grasas (y lipoides)* y *substancias proteicas*. Ahora bien, las grasas y los hidratos de carbono pertenecen en su mayor parte a la serie acíclica, aun cuando por ejemplo para los azúcares, se tiende actualmente a admitir la presencia de un anillo de tipo furánico, como diremos en su lugar ; en cuanto a las proteínas podemos decir que se trata de compuestos moleculares enormes, resultantes de la agregación de compuestos relativamente sencillos, los *aminoácidos*, pertenecientes unos a la serie grasa o acíclica y otros a la serie aromática y cíclica.

En general, estas tres categorías clásicas de los componentes del organismo no tienen, pues, una individualidad química absoluta ; sólo están bien definidas respecto a los compuestos más típicos y casi diríamos representativos. Sin embargo, tienen una individualidad fisiológica y por esto, aun actualmente, son descritos separadamente y considerados aparte en el metabolismo orgánico, en cuyos complicados procesos frecuentemente se encuentran y se transforman.

En los compuestos del carbono son frecuentes los fenómenos de *asimetría molecular* que están íntimamente relacionados con la llamada *actividad óptica, poder rotatorio* o aptitud para desviar el plano de polarización de la luz polarizada. Puede considerarse como uno de los más bellos descubrimientos de PASTEUR el de la relación entre la forma cristalina (y por lo tanto la *forma* molecular) y el poder rotatorio, que se reconoce y mide con el polariscopio y con el polarímetro. Se sabe que son ópticamente activas, esto es, capaces de hacer girar hacia la derecha o hacia la izquierda el plano de la luz polarizada, aquellas substancias que tienen en su composición molecular uno o más átomos de C asimétricos, esto es, ligados con cuatro grupos atómicos distintos. Por ejemplo, el ácido láctico está dotado de poder rotatorio porque tiene un átomo de C en estas condiciones : $CH_3 — \dot{C}HOH — COOH$: el C que lleva un punto superpuesto es precisamente el asimétrico, porque está ligado a las cuatro agrupaciones atómicas distintas entre sí : CH_3, H, OH y COOH. Precisamente se conocen dos ácidos lácticos diferenciables sólo por la diversa dirección del poder rotatorio : el *levógiro* que gira a la izquierda el plano de polarización y el *dextrógiro* que lo desvía hacia la derecha. Estos dos cuerpos se denominan *antípodas ópticos* y constituyen un par de *estereoisómeros* con poder rotatorio igual y de opuesta dirección. Se llaman en general *estereoisómeros* aquellos compuestos cuya molécula posee los mismos agrupamientos atómicos, pero orientados de distinta manera en el espacio. En el caso de los antípodas ópticos, debemos pensar que la molécula del uno es como la imagen especular de la molécula del otro ; en resumen, que las dos moléculas (por ejemplo de ácido láctico dextrógiro y levógiro) son iguales pero no pueden superponerse, como la mano derecha y la izquierda.

No es ocasión de recordar que la *estereoquímica*, o doctrina de la posición recíproca de los átomos en el espacio, que estudia pues la *configuración molecular*, tiene actualmente una importancia fundamental para el biólogo. Muchísimos compuestos orgánicos son ópticamente activos y es curioso que el organismo puesto en presencia de varios estereoisómeros de un mismo compuesto, fabrica o utiliza algunos con absoluta electividad. Así, de un par de antípodas ópticos, casi siempre sabe escoger uno, y sólo contiene, produce o consume éste.

Se llaman compuestos *racémicos* las mezclas (que quizás no son mezclas propiamente dichas, sino verdaderas combinaciones lábiles) de dos antípodas ópticos, con lo cual, la actividad óptica queda reducida a cero por la interferencia de las dos actividades iguales y opuestas. La actividad óptica se indica con las letras *d-*; *l-* y *d,l-*, antepuestas al nombre de la substancia y que expresan que ésta es la variedad dextrógira, levógira o racémica (1). El valor preciso del poder rotatorio de una substancia (solución) se calcula en grados para una capa de un decímetro de solución al 100 % a 20° (disminuye al aumentar la temperatura, porque al aumentar las vibraciones moleculares disminuye la exactitud de su orientación) teniendo en cuenta la línea D del espectro (luz monocromática del sodio). Este *poder rotatorio específico* se indica por $(\alpha)_D$ o más exactamente $(\alpha)_D^{20°}$; y el número de grados que una solución al 100 % (un gr. de substancia en 1 cm.^{3}) hace girar al plano de polarización de la luz monocromática en cuestión va precedido del signo + o — según que la rotación sea dextrógira o sinistrógira. Por ejemplo, para la glucosa es :

$$(\alpha)_D = + 52°,5.$$

Adviértase que hay substancias inactivas que tienen, sin embargo, asimetría molecular : en este caso se encuentran siempre un número par (dos o más) de átomos de C asimétricos y la configuración molecular es tal, que una mitad de la molécula es, por decirlo así, la ima-

(1) Sin embargo, frecuentemente la notación no corresponde a la rotación efectiva, pero, como sucede en el grupo de los azúcares, expresa una relación genética con formas que tienen aquel sentido de rotación, aun cuando después presente el de signo opuesto. Así la levulosa común, levógira se llama científicamente *d*-fructosa por su conexión con la forma *d*.

gen especular de la otra mitad. Existe, pues, una especie de compensación interior, intramolecular, de la asimetría, de la cual nace una *simetría interna* y una anulación de la actividad óptica. Estos estereoisómeros se designan por *i-* ; así, además del ácido tartárico dextrógiro, del levógiro y del racémico, existe otro que es el ácido i-tartárico.

Cuando existe en la molécula más de un átomo de C asimétrico, el número de estereoisómeros posibles crece mucho ; generalmente para n-átomos de C asimétricos existen 2^n estereoisómeros. Supongamos, por ejemplo, una substancia con esta fórmula (o un azúcar) :

$CH_2 \cdot CH$
|
$CH \cdot CH$
|
$CH \cdot OH$
|
$CH \cdot OH$
|
$CH \cdot OH$
|
$COH.$

En ella, excepto los dos átomos extremos de C que forman parte de un grupo alcohólico primario ($CH_2 — OH$) o de un grupo aldehídico (COH) los cuales no están unidos con cuatro grupos diversos, sino sólo con tres, todos los demás (cuatro) átomos de C son asimétricos, y por esto son posibles $2^4 = 16$ estereoisómeros $= 8$ pares de antípodas ópticos. Este número queda reducido cuando se trata de compuestos que pueden adquirir simetría interna y en los que se presentan, por consiguiente, variedades inactivas del tipo antes dicho.

El mundo viviente es esencialmente un mundo asimétrico (MATHEWS) : ya hemos dicho que de los varios estereoisómeros de una substancia dada, el organismo no contiene o no elabora generalmente más que uno ; así, por ejemplo, el músculo que trabaja elabora sólo ácido láctico dextrógiro, y en la autolisis o autodigestión *in vitro* de los órganos se forma la misma variedad de este oxiácido.

Ciertos blastomicetos (levaduras), hifomicetos y bacterias atacan determinadas variedades ópticas de los azúcares y no otras, de tal manera que con estos agentes fermentantes pueden conseguirse separaciones difíciles de realizar con otros medios. También los fermentos tienen una pronunciada afinidad para un estereoisómero dado y no por otro, como si estuviesen adaptados para obrar sobre una configuración molecular dada y no sobre otra : así, de los dos metilglucósidos estereoisómeros, algunos fermentos atacan sólo la variedad llamada *α*, y otros la *β*. Si una tripsina ataca a un cierto polipéptido, basta que éste tenga un poder rotatorio diverso del natural para que ya no experimente la acción enzimática.

Probablemente los fenómenos de especificidad en el campo de la inmunidad pertenecen a esta clase de hechos : deben necesitarse configuraciones moleculares recíprocamente adaptables, por decirlo así encajantes, para que se desarrollen aquellas reacciones complejas entre antígeno y anticuerpo, entre protoplasma y veneno o medicamento, tan bien estudiadas en Immunología y Farmacología.

Notemos, finalmente, que el hecho mismo de que los organismos producen variedades ópticamente activas de tantos compuestos (azúcares, aminoácidos, etc.) es prueba de una asimetría fundamental de la molécula viviente : efectivamente, sabemos que haciendo reaccionar substancias inactivas, generalmente se producen compuestos racémicos, o sea mezclas, o mejor combinaciones lábiles, de partes iguales de dos antípodas ópticos ; en cambio, determinados estereoisómeros activos se producen por la reacción de moléculas dotadas también, por lo menos en parte, de poder rotatorio y, por lo tanto, asimétricas (1).

---

(1) Propiamente hablando, la cuestión ya planteada por PASTEUR de si en las células vivientes las substancias ópticamente activas son producidas directamente o resultan de la destrucción unilateral de compuestos racémicos, está aún por resolver. Generalmente se tiende a admitir la primera opinión : que la materia viva, ella misma asimétrica, genera compuestos asimétricos, Pero PIUTTI ha podido demostrar (*Rend. Acc. Scienze di Napoli*, serie 3.ª, t. 21, 1915 ; *Bullet. Soc. chim. de France*, 13, IV, 1923), que hay un vegetal que produce las dos asparaginas, la dextrógira y la levógira, y que utiliza primero la variedad *d* que la otra por lo cual el contenido ordinario de *l*-asparagina es debido no a una producción especializada, sino a un consumo especializado y cronológicamente diferenciado, por parte del organismo vegetal. Sería interesante ampliar estas investigaciones, con idéntico criterio, al reino animal.

CAPÍTULO V

Hidratos de carbono

Los hidratos de carbono son constituyentes esenciales de los organismos, aunque generalmente se les atribuya una categoría fisiológica inferior a la de las grasas y proteínas. En realidad, gran parte de la energía se obtiene en el organismo por la combustión de los hidratos de carbono. Por otra parte estos compuestos son los primeramente formados como productos de la actividad vital ; aparecen en las plantas verdes por la combinación del C del anhídrido carbónico con el H_2O, en los procesos de fotosíntesis clorofiliana, elaborándose después a expensas de ellos, las grasas y los proteicos. En los hidratos de carbono se incluyen los azúcares, los productos amiláceos, la celulosa y las gomas.

No es fácil definir los hidratos de carbono con exactitud y al mismo tiempo con toda generalidad. Comúnmente se dice que se trata de compuestos ternarios, esto es, constituídos por los tres elementos, carbono, hidrógeno y oxígeno, en los cuales estos dos últimos se encuentran en la proporción con que existen en el agua, es decir, un átomo de O por cada dos de H. En realidad, muchísimos tienen una fórmula del tipo $(CH_2O)_n$, como la glucosa, el hidrato de carbono fundamental para nosotros, que es $C_6H_{12}O_6$ y que correspondería, pues, a 6 átomos de C con 6 moléculas de agua ; es cierto que tratándola por agentes enérgicamente deshidratantes como el ácido sulfúrico, o calentándola fuertemente, se obtiene carbón, es decir, carbono casi puro, por pérdida total del agua. Por otra parte, existen hidratos de carbono en los cuales no se encuentra exactamente esta proporción de los elementos fundamentales : ramnosa = metilpentosa = $C_6H_{12}O_5$, y en cambio hay substancias que tienen aquel tipo de fórmula empírica, como el ácido láctico ($C_3H_6O_3$) y no pueden considerarse como hidratos de carbono.

Quizás podamos caracterizar mejor a los hidratos de carbono diciendo que se trata de derivados aldehídicos o cetónicos de alcoholes polivalentes. Los hidratos de carbono fundamentales forman el grupo de los llamados *monosacáridos*, a los que siguen los *disacáridos* y los

polisacáridos que no son más que polímeros de los primeros, pues, la molécula de los disacáridos está constituída por dos moléculas de monosacáridos (combinación etérea) y la de los polisacáridos es un producto de condensación de agrupaciones moleculares del tipo monosacárido. De lo dicho se deduce el interés fundamental de los monosacáridos, de los cuales los más importantes para nosotros son : la glucosa, la levulosa y la galactosa.

Observemos de paso que los monosacáridos y los disacáridos son los llamados comúnmente *azúcares*. Son todos solubles en agua, en la cual dan soluciones *verdaderas*, dotadas de poder rotatorio.

a) Monosacáridos.

La fórmula de la glucosa (o dextrosa) y la galactosa por una parte y la de la levulosa (o fructosa) por otra (dejando por ahora la cuestión de su configuración real) pueden escribirse así :



Glucosa y galactosa — Levulosa

Se ve que la glucosa (azúcar de uva, llamada también dextrosa) está constituída por 5 grupos alcohólicos (uno de ellos de alcohol primario : $CH_2.OH$ y 4 secundarios : CH.OH) y por un grupo aldehídico COH y la levulosa o fructosa (azúcar existente en muchas frutas) está también constituída por 5 grupos alcohólicos (2 terminales primarios y 3 secundarios) y por un grupo cetónico CO. Se ha demostrado que todos los monosacáridos están construídos siguiendo este esquema; son, pues, aldehidos polioxidrilados, o bien oxicetonas, y por lo tanto pueden dividirse en *aldosas* y *cetosas*, según que posean el grupo aldehídico o el cetónico (1). Por tener el carácter de aldehidos y de ce-

(1) Las *cetosas* se caracterizan por la *reacción de* Seliwanof (considerada erróneamente como reacción de la fructosa, cuando otras cetosas, con un cierto grado de acidez, también la dan) : añadiendo unos cristales de resorcina a una mezcla de partes iguales de HCl y agua con una pequeña cantidad de fructosa y calentando luego al baño maría durante mucho tiempo, se obtiene una coloración roja y, luego, un precipitado pardo soluble en alcohol, debido a la producción de 4-oximetilfurfurol, que reacciona con la resorcina formando un compuesto coloreado. Para obtener buenos resultados, ya que la concentración en H-iones y las proporciones del reactivo influyen mucho, es mejor proceder como Mathews, preparando 45 c. c. de reactivo con 15 c. c. de HCl concentrado, 4,5 c. c. de resorcina en solución alcohólica al 0,5 % y cantidad suficiente de agua ; se mezclan

tonas, los monosacáridos son reductores activos (esto es, que son fácilmente oxidables) y en efecto, reducen enérgicamente la solución amoniacal de nitrato de plata y las soluciones alcalinas de las sales de mercurio, de cobre, de oro y de bismuto ; reducen también el ácido pícrico (amarillo) a picrámico (rojo) ; por otra parte son oxidantes, porque fijan fácilmente H, deshidrogenando, pues (es decir, oxidando) otras substancias. En efecto, el grupo aldehídico — COH se oxida fácilmente dando el grupo — COOH (carbóxilo) de los ácidos, pero también se reduce con facilidad dando el grupo alcohólico primario — CH_2OH. El grupo cetónico — CO, por otra parte, también se transforma por reducción (hidrogenación) en el grupo alcohólico secundario CH · OH, mientras que si sobre las cetonas actúan agentes oxidantes, la cadena de átomos de C se rompe y se forman miembros de cadena más corta. Desde el punto de vista biológico tienen un gran valor las propiedades oxidantes de los azúcares : la glucosa facilita en cierta manera la vida anaerobia, porque al reducirse, proporciona oxígeno a otros cuerpos más difícilmente combustibles. En la reducción de los azúcares quizás se originan cadenas más largas de átomos de C, que constituyen después los ácidos grasos. Se comprende, pues, que tanto las aldosas, como las cetosas, tienen estrechas relaciones por un lado, con los alcoholes, y por otro, con los ácidos orgánicos del mismo número de átomos de C. Así, por reducción del grupo aldehídico a alcohólico, la glucosa puede dar origen a un alcohol hexavalente, la sorbita, y por oxidación del mismo grupo aldehídico a carboxilo, originar el ácido glucónico :

$$\underset{\text{Glucosa}}{CH_2OH \cdot (CHOH)_4 \cdot COH} \xrightarrow[\text{red.}]{} \underset{\text{Sorbita}}{CH_2OH \cdot (CHOH)_4 \cdot CH_2OH}$$

$$\underset{\text{Glucosa}}{CH_2OH \cdot (CHOH)_4 \cdot COH} \xrightarrow[\text{oxid.}]{} \underset{\text{Acido glucónico}}{CH_2OH \cdot (CHOH)_4 \cdot COOH}$$

Pero en la glucosa la oxidación puede afectar tanto al grupo aldehídico como al alcohólico primario terminal, y entonces se obtienen ácidos orgánicos bibásicos (con dos carboxilos), como el ácido sacárico y sus estereoisómeros (ácido múcico, etc.) :

$$COOH \cdot (CHOH)_4 \cdot COOH$$

Existe también, para la glucosa, un grado de oxidación en el cual sólo el grupo alcohólico terminal ha pasado a carboxilo, mientras que el grupo aldehídico se conserva : éste es el *ácido glicurónico*, dextrógiro, no fermentescible, que todavía posee, como aldehido que es, un notable poder reductor ; su fórmula es : $COOH \cdot (CHOH)_4 \cdot COH$. Puede encontrarse en la orina en combinación etérea mediante el

5 c. c. de este reactivo con 1 c. c. de la solución del sacárido, que debe diluirse de manera que corresponda a cosa de 1/5 de la solución molar. Hiérvase luego al *baño maría* durante largo tiempo.

grupo aldehídico con varias substancias, por ejemplo cuerpos fenólicos, o bien, después de la administración de hidrato de cloral o de alcanfor, con estos cuerpos. Muchos productos de acoplamiento, presentes por ejemplo en la orina, son levógiros ; éstos *no reducen* naturalmente, por estar ocupado el grupo aldehídico, sino después de escindirlos (hieviéndolos con ácidos fuertes) con liberación de este grupo.

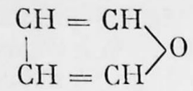
Los monosacáridos no sólo pueden clasificarse según el carácter del grupo más reaccionante (óxido-reductor ; aldehídico o cetónico) que posean, sino también según el número de átomos de C oxidados y, como en la inmensa mayoría de azúcares todos los átomos de C están oxidados (1), puede decirse que los monosacáridos se clasifican por el número de átomos de C. Así se habla de biosas, triosas, tetrosas, pentosas, hexosas, heptosas, etc., hasta decosas, según sea este número. Naturalmente, dentro de cada grupo de un mismo número de átomos de C pueden distinguirse siempre aldosas y cetosas, y así se habla de aldohexosas, cetopentosas, etc.

La Química moderna ha conseguido, gracias a los trabajos fundamentales de E. Fischer, preparar por síntesis varios monosacáridos, llegando a obtener términos superiores como las decosas que no se hallan en la Naturaleza. En ella se encuentran principalmente pentosas, hexosas y heptosas. Puede decirse que el hidrato de carbono elemental y quizás el punto de partida para la síntesis natural de todos estos cuerpos (en el reino vegetal) es el formaldehido, H · COH, cuya presencia se ha demostrado en las plantas y cuya facultad de formar productos de condensación es bien conocida. La biosa estaría representada por el compuesto $CH_2OH \cdot COH$, que es el aldehido glicólico, y las triosas son el aldehido glicérico $CH_2OH \cdot CHOH \cdot COH$ (aldotriosa) y su isómero cetónico, dioxiacetona $CH_2OH \cdot CO \cdot CH_2OH$ (cetotriosa), que probablemente son productos intermedios de mucha importancia en la fermentación del azúcar y en el metabolismo de la glucosa en el organismo. Deberemos ocuparnos más detenidamente de las pentosas y hexosas ; es dudosa la presencia de heptosas en el cuerpo animal (quizás han sido encontradas en la orina), pero es cierta en los vegetales.

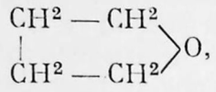
No podemos dejar de ocuparnos brevemente sobre la constitución íntima de los azúcares del grupo de los monosacáridos. Comúnmente se escriben las fórmulas de la manera antedicha, pero su constitución es mucho más compleja de lo que en ellas aparece, tanto que, según Tollens, parece que no existe en las aldosas un grupo aldehídico verdaderamente libre, sino que en realidad son alcoholes secundarios soldados en anillo mediante un átomo de oxígeno, viniendo a resultar un anillo de cinco miembros, según la fórmula siguiente (para la glucosa) :

$$CH_2OH \cdot CHOH \cdot CH \cdot CHOH \cdot CHOH \cdot CHOH$$
$$\quad\quad\quad

El anillo formado por 4 átomos de C y uno de O, es el del furano :



y, todavía mejor, el del hidrofurano



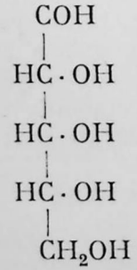
con oxidrilación de tres átomos de C y una cadena lateral también hidroxilada. Así, pues, el azúcar sería un derivado del hidrofurano, y esto explicaría la facilidad con que de varios azúcares se obtiene el furfurol (aldehido furánico) por tratamiento con ácidos fuertes : reacción ésta de gran importancia analítica.

Los monosacáridos (y lo mismo puede decirse para los disacáridos) son ópticamente activos, esto es, hacen girar el plano de vibración de la luz polarizada. Esta propiedad también tiene mucho interés en Análisis. Hay que recordar que las impurezas modifican mucho el poder rotatorio de los azúcares, por lo cual en las investigaciones polarimétricas debe tenerse en cuenta la naturaleza de la solución que se examina, además de otros varios factores.

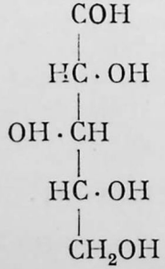
Como en las hexosas hay 4 átomos de C asimétricos, deberemos obtener 16 estereoisómeros, o sean 8 pares de antípodas ópticos, y así es en realidad. Por el contrario, en los alcoholes respectivos (sorbita, dulcita, manita, etc.) el número de estereoisómeros posibles es sólo de 10, porque el grupo aldehídico (tratándose de las aldosas) está reducido a alcohol primario, igual que el otro extremo de la molécula, y por eso las posibilidades asimétricas son menores.

Sin detenernos en demasiados detalles, que estarían fuera de lugar, presentamos la fórmula de algunos de los principales monosacáridos, pentosas y hexosas, teniendo en cuenta la posición de los respectivos átomos en el espacio *(configuración estérica)* :

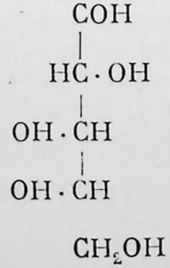
Pentosas : los tres átomos centrales de C son asimétricos.



d-Ribosa

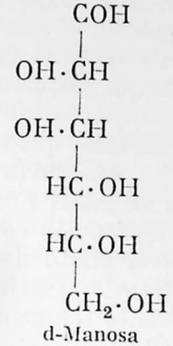


l-Xilosa

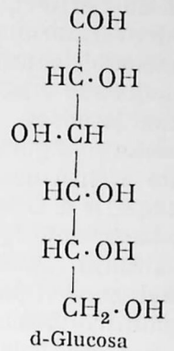


l-Arabinosa

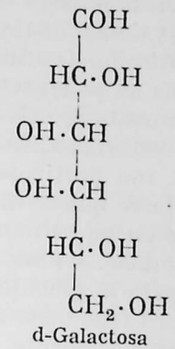
Hexosas : los cuatro átomos centrales de C son asimétricos en las cuatro aldosas, pero sólo tres de ellos en la cetosa.



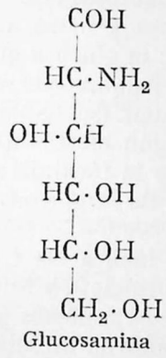
d-Manosa



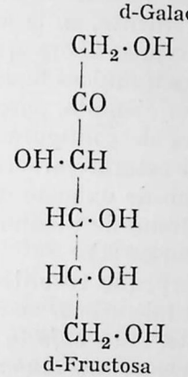
d-Glucosa



d-Galactosa



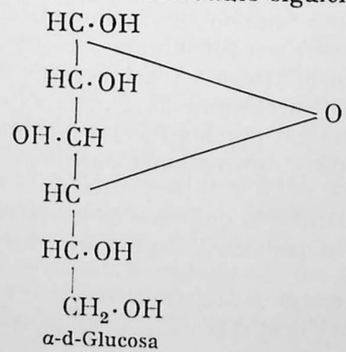
Glucosamina



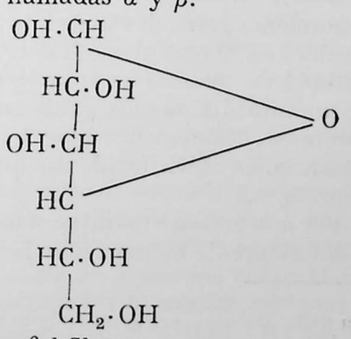
d-Fructosa

Para esta cetosa, véase la nota de la página 43. En realidad es levógira (se llama también levulosa), pero tiene la configuración fundamental de los d-azúcares (compárese con la glucosa) y puede obtenerse fácilmente de la d-glucosa; por esto se la denomina d-fructosa.

Si queremos introducir en la fórmula estructural la representación del anillo hidrofuránico según TOLLENS, deberemos admitir otro átomo de C asimétrico y, por ejemplo, para la d-glucosa, aceptar como posibles las dos variedades siguientes, llamadas α y β.



α-d-Glucosa



β-d-Glucosa

Cuando se disuelve glucosa ordinaria en el agua, parece que al principio sólo se obtiene la variedad α, que poco a poco se transforma en parte en la β hasta llegar a un cierto equilibrio. Mas, como las dos variedades tienen distinto poder rotatorio, se comprende el fenómeno de la *multirrotación* : una solución de azúcar de uva acabada de preparar tiene un poder rotatorio diverso y más fuerte que el que tendrá definitivamente al cabo de una 24 horas.

Estas lentas modificaciones de configuración molecular que entran en juego, son particularmente acentuadas y mejor conocidas en la glucosa. Si se quiere hacer adquirir a la solución su poder rotatorio definitivo en pocos minutos, basta una ligera alcalinización con carbonato sódico : entonces se alcanza rápidamente el punto de equilibrio y para la glucosa obtendremos el poder rotatorio específico de + 52°,5. El fenómeno de la multirrotación se presenta también, aunque menos claramente, en la levulosa, galactosa, etc.

Puede observarse ahora que la glucosa y otros azúcares no son individualidades químicas bien definidas : la glucosa que se encuentra en la sangre, por ejemplo, parece ser diversa, aunque sólo por algunas particularidades de configuración molecular (se habla de una variedad γ), la cual estaría caracterizada, según ciertos químicos, por la unión del átomo de oxígeno del anillo de la fórmula antes expuesta, no al cuarto átomo de C, sino al tercero de la glucosa extraña introducida del exterior (1).

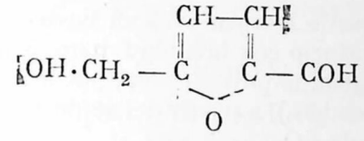
También hay que recordar que son fáciles las transformaciones de una variedad de azúcar en otra estereoisómera y también de aldosa en cetosa, sobre t do *bajo la influencia de pequeños grados de alcalinidad (transformaciones tautoméricas* o nuevas ordenaciones moleculares). Así, en presencia de álcalis, la glucosa se transforma parcialmente en manosa y fructosa y viceversa ; también la galactosa experimenta transformaciones, siempre reversibles, en otros azúcares (talosa, sorbosa, etc.). Generalmente, se establecen equilibrios entre los diversos tipos de azúcar, cosa que tiene gran importancia en el metabolismo : por ejemplo, la manosa contenida en los líquidos orgánicos débilmente alcalinos se transforma en parte en dextrosa y fructosa, y las tres formas moleculares acaban por coexistir en determinadas proporciones ; si la dextrosa o la fructosa (mucho más fácilmente combustibles en el organismo que la manosa) son consumidas, una nueva cantidad de manosa se transforma en dextrosa y fructosa, que a su ve : son inmediatamente oxidadas, y así sucesivamente. Por esta razón la manosa, difícilmente atacable como tal por las fuerzas oxidantes orgánicas, también puede ser quemada y aprovechada para los fines energéticos.

Por una acción más intensa de los álcalis, la molécula de las hexosas se desintegra de manera semejante a lo que sucede en los procesos del

(1) Para aplicaciones clínicas de este concepto a la patología y a la terapéutica de la diabetes, véase un trabajo de Rubino y Varela en *Klin. Woch.*, 1922, n.° 48 ; y lo que diremos acerca de la *insulina*.

metabolismo : se forman cadenas más cortas de átomos de C, resultando ácido láctico, aldehido glicólico, dioxiacetona, alcohol, etc. Por una acción aún más enérgica, se obtiene una coloración amarilla o pardo-amarillenta de la solución azucarada y se forman productos no bien definidos, probablemente mediante nuevas condensaciones de los productos de escisión primarios en compuestos ricos en carbono (substancias húmicas) ; el calentamiento de la solución azucarada fuertemente alcalina acelera estas transformaciones (prueba de Moore para el azúcar).

Tiene importancia analítica el recordar que también los ácidos atacan a la molécula de los monosacáridos : así las hexosas son descompuestas en caliente por los ácidos fuertes en CO, CO_2, ácido fórmico y especialmente ácido levulínico, que es un ácido acetilpropiónico $CH_3 \cdot CO \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH$; por una acción todavía más enérgica aparece el oximetilfurfurol :



Las pentosas dan derivados furánicos aun con mayor facilidad y rapidez ; tratadas en caliente por los ácidos, dan rápida y abundantemente furfurol y éste, con orceína, puede dar un precipitado azul o verde oscuro insoluble, que se utiliza también en Análisis cuantitativo (la pretendida *reacción roja del furfurol* que dan las pentosas calentadas con HCl y floroglucina parece, por el contrario, que no tiene nada que ver con el furfurol).

Se puede demostrar con un sencillo experimento el desarrollo de furfurol por las pentosas y las pentosanas como la goma arábiga (ésta es fácil de convertir en arabinosa por medio de la hidrólisis con los ácidos : basta hervir 5 gr. de goma durante 5 minutos con 100 c. c. de HCl al 10 % y neutralizar después con álcali para obtener una solución de aquella pentosa). Se hierve la solución de pentosa o de pentosana con la mitad de su volumen de CHl concentrado y, cuando casi todo el HCl se ha evaporado, se expone a los vapores un trozo de papel impregnado de acetato de anilina (partes iguales de anilina, ácido acético cristalizable y agua) ; el papel adquiere un hermoso color carmesí.

He aquí las reacciones clásicas de las pentosas :

R. de la floroglucina (Tollens) : mezclar la solución de pentosa con partes iguales de HCl y un poco de floroglucina (solución alcohólica al 2 %) ; calentar al baño maría hirviendo : coloración rojo cereza, enturbiamiento y, por fin, precipitado. Si después de dejar enfriar, se disuelve este precipitado en alcohol amílico, se obtiene un líquido que presenta al espectroscopio una banda de absorción entre D y E.

R. de la orceína : se acostumbra a mezclar la solución de pentosa (orina de pentosúrico) o pentosana con partes iguales de HCl concen-

trado y se añade un poco de solución acuosa de orceína al 50 % : calentando se obtiene una coloración roja, después violeta, azul y finalmente verde, con precipitado que disuelto en alcohol amílico presenta una banda de absorción entre C y D.

R. de BIAL, modificación de la precedente : añadiendo gota a gota el reactivo de BIAL a 5 c. c. de una solución de pentosa hirviendo, se obtiene una hermosa coloración verde que, agitando el líquido con alcohol amílico, pasa a éste. El reactivo es el siguiente : prepárense 500 c. c. de HCl al 30 %, disuélvase en ellos 1 gr. de orceína, y agréguense 30 gotas de cloruro férrico al 10 %.

Debe observarse que el ácido glicurónico puede dar esta reacción. Para distinguir las pentosas de este ácido, TOLLENS (1) propone el uso de la naftorresorcina : ésta, hervida con HCl al 18 % y ácido glicurónico, da una substancia soluble en éter, mientras que las materias colorantes formadas con las pentosas o la ramnosa *son insolubles* en éter.

La transformación de las pentosas en hexosas y viceversa puede obtenerse en el laboratorio con facilidad, pero es interesante recordar que un proceso biológico, la putrefacción, puede originar una pentosa, la xilosa (azúcar de madera), a partir del ácido glicurónico, por el simple desprendimiento de CO_2 :

$$COOH\cdot(CHOH)_4\cdot COH = CO_2 + CH_2OH\cdot(CHOH)_3\cdot COH,$$

siendo el ácido glicurónico un producto de oxidación de la glucosa.

Para el estudio de los azúcares tiene gran importancia la combinación de éstos con la fenilhidracina y otros productos aromáticos de substitución de la hidracina $H_2N - NH_2$. Se distinguen dos series de combinaciones de los azúcares con la fenilhidracina $C_6H_5\cdot HN\cdot NH_2$ u otras hidracinas aromáticas $Ar - HN - NH_2$: las hidrazonas y las osazonas.

Haciendo obrar sobre el sacárido una primera molécula de fenilhidracina se obtienen hidrazonas, según el esquema siguiente, donde se expresa respectivamente la reacción con las aldosas (1) y con las cetosas (2) :

(1) $$CH_2OH\cdot(CHOH)_n\cdot COH + N_2H_3\cdot C_6H_5 = CH_2OH\cdot(CHOH)_n\cdot CH\cdot N\cdot NH\cdot C_6H_5 + H_2O$$

(2) $$CH_2OH\cdot(CHOH)_n\cdot CO\cdot CH_2OH + N_2H_3\cdot C_6H_5 = CH_2OH\cdot(CHOH)_n\cdot C(=N\cdot NH\cdot C_6H_5)\cdot CH_2OH + H_2O$$

Se ve, pues, que la fenilhidracina reacciona con el grupo aldehídico o cetónico, mediante eliminación de una molécula de agua. Las hidrazonas no son a veces completamente insolubles en agua, por lo cual no siempre sirven para la separación o reconocimiento perfecto de los azúcares ; sin embargo, la hidrazona de la manosa es insoluble y forma cristales con punto de fusión característico (195°). Las hidrazonas tienen un alto grado de especificidad para cada azúcar. Además, tratándolas por formaldehido pueden ser escindidas y restituir integralmente el azúcar original : este es un buen método de aislamiento de los azúcares.

(1) *Berichte*, vol. XLI, 1908.

Entrando en reacción una segunda molécula de fenilhidracina, se forman las *osazonas* (tratamiento con exceso de hidracina en medio débilmente ácido) : en tal caso no sólo es atacado el grupo reductor aldehídico o cetónico, sino también el grupo alcohólico más próximo de la molécula de azúcar. He aquí el esquema de la reacción para las aldosas (1) y cetosas (2) :

(1) $$.....CHOH\cdot COH + 2N_2H_3\cdot C_6H_5 = ...C(=N\cdot NH\cdot C_6H_5)\cdot CH = N\cdot NH\cdot C_6H_5 + 2H_2O + H_2$$

(2) $$.....CO\cdot CH_2OH + 2N_2H_3\cdot C_6H_5 = ...C(=N\cdot NH\cdot C_6H_5)\cdot CH = N\cdot NH\cdot C_6H_5 + 2H_2O + H_2$$

Las osazonas son más insolubles en agua que las hidrazonas ; también se prestan mejor a la separación y reconocimiento de los azúcares : forman cristales plumosos o aciculares, característicos, generalmente amarillos, con punto típico de fusión (205° para la glucosazona, 200° para la lactosazona, 206° para la maltosazona, 192°-195° para la galactosazona). Pero no pueden ser escindidas con restitución del azúcar originario y tienen una especificidad menor que las hidrazonas. Este último hecho se comprende fácilmente pensando que en la reacción con dos moléculas de fenilhidracina, han intervenido dos grupos vecinos, uno alcohólico y otro aldehídico o cetónico, por lo cual se obtendrá la misma osazona con todos los azúcares o derivados que tengan iguales los grupos excluídos de la reacción : en otros términos, tendremos osazonas iguales con los azúcares cuya diversidad de es-

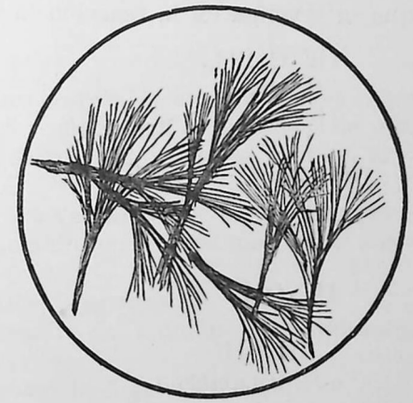
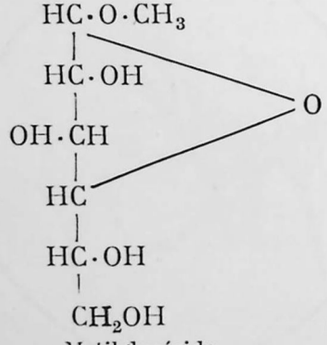


FIG. 1. Cristales de fenilglucosazona de forma plumosa o acicular.

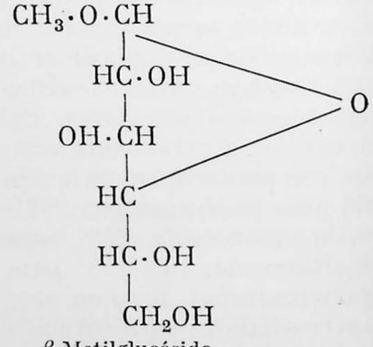
tructura se refiera sólo a los dos grupos reaccionantes. Por ejemplo, la glucosa, la fructosa, la manosa y la glucosamina darán todas la misma osazona, como se comprueba observando la fórmula de configuración de la página 51.

En la práctica, para el estudio de los azúcares, no se usa la fenilhidracina libre, sino su clorhidrato, más estable y soluble, y se añade acetato sódico porque en presencia del clorhidrato de fenilhidracina se tiene cloruro sódico y acetato de fenilhidracina, sal disociable hidrolíticamente, de modo que se reconstruye la base (fenilhidracina) libre, mientras que el medio ácido facilita la reacción. Se comprende que también reaccionarán con la fenilhidracina aquellos disacáridos que tengan el grupo aldehídico o cetónico libre (1).

Los *glucósidos* y los *pentósidos* son cuerpos muy difundidos en el reino vegetal, pero menos en el animal, que consisten en combinaciones etéreas de la glucosa u otra hexosa o de una pentosa con varias substancias de carácter alcohólico (mediante eliminación de una molécula de agua). Ya se ha visto como en realidad en los azúcares, en vez de un grupo aldehídico libre, hay un grupo alcohólico unido por medio de un átomo de O con otro carbono (véase la fórmula de Tollens). Este grupo alcohólico puede pues reaccionar con un grupo alcohólico cualquiera de otra substancia, dando origen así a un compuesto con caracteres de éter : el glucósido más sencillo es el *metilglucósido*, esto es, la combinación de la glucosa con alcohol metílico : podemos distinguir el α-metilglucósido y el β-metilglucósido según que intervenga en la reacción la variedad α o la β de la d-glucosa :



α-Metilglucósido



β-Metilglucósido

Para todos los glucósidos podemos considerar las variedades α y β.

(1) En la orina puede practicarse la reacción de la manera siguiente : Se añaden a 10 c. c. de orina dos gotas de acetato de plomo concentrado y se filtra ; el filtrado se acidifica con una gota de ácido acético. Se agrega una cantidad de clorhidrato de fenilhidracina de volumen aproximado al de un guisante y algo más de acetato sódico. Se hierve al baño maría media hora y se deja enfriar lentamente : precipitado amarillo debido a agrupaciones de *cristalitos aciculares con disposición radiada* (fenilglucosazona). La reacción es muy sensible (puede llegar a dar resultado positivo con los indicios de azúcar normalmente presentes en la orina).

Los glucósidos, por hidrólisis con ácidos diluídos, son escindidos en glucosa y el otro compuesto ; también muchas enzimas llevan a cabo esta desintegración presentando una acentuada electividad (así la emulsina y la lactasa atacan al β-glucósido, y la maltasa al α). Entre los glucósidos se cuentan muchos medicamentos y venenos de origen vegetal (así la arbutina, producida por la glucosa y la hidroquinona ; la salicina, por la glucosa y la saligenina ; la floridcina, por la glucosa y la floretina ; la saponina producida por varios azúcares y la sapogenina ; también la digitoxina, la estrofantina, etc., son glucósidos). Varios ácidos nucleínicos contienen pentósidos (por ejemplo, el d-ribosio, acoplado con la purina o la pirimidina).

Pueden considerarse como glucósidos, esto es, como éteres, las combinaciones de los monosacáridos de dos en dos, constituyendo los disacáridos.

Finalmente, los monosacáridos pueden dar lugar a combinaciones también del tipo de los ésteres, por contener grupos alcohólicos (un éster es la combinación de un alcohol con un ácido, siempre con eliminación de agua ; ejemplo : el acetato de etilo que resulta del ácido acético combinado con el alcohol etílico). Se conocen efectivamente ésteres de azúcares (hexosas y pentosas) con el ácido fosfórico (en el ácido nucleínico) ; también se ha encontrado el llamado zimofosfato o éster fosfórico de la fructosa (fructosa-difosfato) comparable al *lactacidógeno*, del que hablaremos al tratar de la bioquímica del músculo, y que también parece tener importancia en la fermentación alcohólica.

b) Disacáridos.

Los disacáridos son combinaciones etéreas de monosacáridos entre sí : dos moléculas de monosacáridos se unen con eliminación de una molécula de agua y se obtiene un disacárido, según la fórmula empírica : $2C_6H_{12}O_6 = C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$.

Según que los grupos aldehídico o cetónico queden libres, como pasa en la lactosa, o permanezcan incluídos en la combinación, el disacárido tiene o no poder reductor.

Recordaremos sólo los disacáridos siguientes :

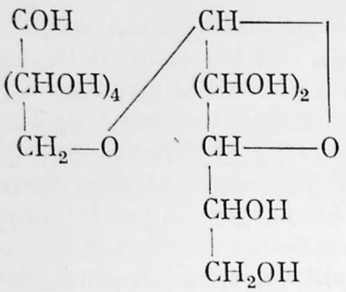
Azúcar de caña o *sacarosa*, que resulta de la unión de la d-glucosa y la d-fructosa.

Lactosa, resultante de la d-glucosa y la d-galactosa.

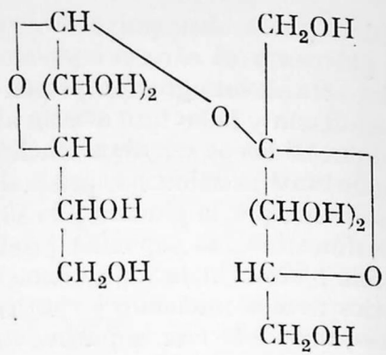
Maltosa, de la d-glucosa combinada con la d-glucosa.

La lactosa y la maltosa reducen, como los monosacáridos (aunque con intensidad diferente), porque el grupo aldehídico queda libre ; no así la sacarosa, en la cual los dos grupos aldehídico y cetónico de los dos monosacáridos que la constituyen están combinados entre sí y, por lo tanto, no dispuestos para la acción reductora (por ejemplo, sobre los óxidos metálicos).

He aquí las fórmulas más probables de configuración de la maltosa y de la sacarosa :



Maltosa



Sacarosa

Podemos hacer notar incidentalmente que los diferentes azúcares, sean mono o disacáridos, no sólo pueden reducir en solución alcalina (como en las pruebas corrientes de TROMMER, FEHLING, NYLAENDER, etcétera), sino también en solución ácida : así la glucosa, la fructosa y la galactosa reducen bien la solución de acetato de cobre acidulada con ácido acético (líquido de BARFOED). El azúcar que reduce este reactivo con mayor rapidez es la fructosa, siguiéndole luego la galactosa y la glucosa. Los disacáridos reducen mucho más lentamente : el más rápido de ellos es la maltosa, después viene la lactosa y, por último, la sacarosa.

Como entre la actividad reductora de la glucosa (el menos activo de los monosacáridos) y la de la maltosa (el más activo de los disacáridos) hay una gran distancia, y la diferencia puede ser considerable a igualdad de concentración de los reactivos, se comprende que la valoración con un líquido tipo como el de BARFOED (1) (es decir, la evaluación del poder reductor sobre el óxido de cobre en medio ácido) pueda servir para diferenciar los monosacáridos de los disacáridos. De todos modos, y aún respecto a las soluciones alcalinas de sales de cobre usualmente empleadas, las diferencias de poder reductor entre los varios azúcares son graduales y no absolutas.

Los disacáridos, como la sacarosa, que no tienen grupo aldehídico o cetónico libre, no forman tampoco hidrazonas u osazonas.

En realidad, como ya habíamos indicado, los disacáridos son verdaderos éteres de un monosacárido con otro monosacárido, o sea, combinaciones de tipo de glucósido. Así, la lactosa es un verdadero galactósido de la glucosa, la maltosa es un glucósido de la glucosa, etc.

Los disacáridos son hidrolizados, esto es, descompuestos, mediante el empleo de una molécula de agua, por los ácidos o álcalis diluídos y por los fermentos o enzimas. Estos se denominan genéricamente

(1) Se prepara el reactivo de BARFOED disolviendo 13,3 gr. de acetato de cobre neutro y cristalizado en 200 c. c. de agua destilada, filtrando después y mezclando 200 c. c. del filtrado con 5 c. c. de solución de ácido acético al 38 %. Cuando se emplea para caracterizar un azúcar debe prolongarse la ebullición durante mucho tiempo.

invertasas, porque, actuando sobre la molécula de sacarosa la invertasa de la remolacha, la de varios microorganismos o la del jugo intestinal, la dividen en las dos moléculas de glucosa y fructosa, y el poder rotatorio dextrógiro que antes poseía la solución de sacarosa se vuelve levógiro, o sea, *invertido*, ya que la intensidad del poder levógiro de la levulosa predomina sobre el dextrógiro de la glucosa (1). En general, se llama *inversión* la escisión de los disacáridos en sus monosacáridos correspondientes.

c) POLISACÁRIDOS.

Se entiende por polisacáridos unos hidratos de carbono de molécula mayor que la de los disacáridos, cuyas disoluciones presentan frecuentemente carácter coloidal (mientras que los sacáridos precedentes son típicamente cristaloides). Algunos polisacáridos son, en efecto, insolubles y como tales se prestan perfectamente a formar tabiques y paredes celulares (como la *celulosa* de la membrana de las células vegetales). Muchos de ellos constituyen substancias de reserva *(almidón, glicógeno)*, representando un material hidrocarbonado, fácilmente hidrolizable por las enzimas del organismo, y por lo mismo transformable en los mono y disacáridos constituyentes. En realidad, los *polisacáridos* o *poliosas* son una especie de polímeros superiores de los sacáridos más sencillos de que hemos tratado hasta ahora. Se dice generalmente que un polisacárido, por ejemplo el almidón, está compuesto por un cierto número *n* de moléculas del monosacárido fundamental, la glucosa, con eliminación de n-1 moléculas de agua. La fórmula general de los polisacáridos integrados por glucosa o galactosa sería pues :

$$(C_6H_{12}O_6)_n - H_2O_{(n-1)};$$

y si para un polisacárido dado admitimos, por ejemplo, 10 moléculas de glucosa condensadas, tendríamos :

$$(C_6H_{12}O_6)_{10} - 9H_2O = C_{60}H_{102}O_{51}.$$

La unión entre cada una de las moléculas del monosacárido sería una unión etérea, parecida a la de los glucósidos, y su fórmula general podría desarrollarse de esta manera :

$$C_6H_{11}O_5 - O - C_6H_{10}O_4 - O - C_6H_{10}O_4 - \ldots\ldots C_6H_{10}O_4 - O - C_6H_{11}O_5.$$

(1) Recuérdese la elevada multirrotación de la glucosa : la glucosa acabada de formar (variedad α) gira hacia la derecha mucho más que al final de las sucesivas dislocaciones moleculares, de donde se deriva que la inversión del poder rotatorio debida a la aparición de la levulosa (multirrotación ligera) es mucho más tardía de lo que corresponde a la rapidez de la escisión del disacárido. En otros términos : si se quiere seguir en el polarímetro la escisión, causada por ejemplo, por una enzima, hay que tener presente que ésta es mucho más rápida de lo que parece, y si se quiere eliminar esta causa de error hay que alcalinizar ligeramente la solución, por ejemplo, con carbonato sódico, en cuyo caso los azúcares multirrotatorios adquieren inmediatamente el poder rotatorio definitivo.

Se llaman glucosanas, galactosanas, pentosanas, etc., los polisacáridos constituídos respectivamente por glucosa, galactosa, pentosa, etc. Por ejemplo: la *inulina* (especie de almidón abundante en las alcachofas, topinambor y ciertas raíces) está constituída por moléculas de d-fructosa. En la madera y en la goma arábiga, existen muchas pentosanas. El único polisacárido animal es el *glucógeno*, llamado también almidón animal, representante de la forma menos soluble de almacenamiento de los hidratos de carbono en el organismo animal, en el cual, por el contrario, la glucosa representa la forma circulante y fácilmente aprovechable para los fines energéticos. Se conoce, además, otro polisacárido animal, la *tunicina*, propia de los tunicados, muy parecida a la celulosa vegetal.

La verdadera composición de los polisacáridos es todavía desconocida en parte. Si tomamos como ejemplo el almidón, sabemos de cierto que por la acción de una enzima (amilasa) o de los ácidos, puede ser atacado y escindido en compuestos moleculares menores, las llamadas *dextrinas*, que se dividen a su vez (por efecto de enzimas: *dextrinasas*, frecuentemente mezcladas a la amilasa, o por los ácidos) en moléculas de maltosa. Por ulterior escisión hidrolítica de este disacárido se llega a la glucosa, el monosacárido constitutivo fundamental.

Se podría representar la degradación molecular por el siguiente esquema, en el cual a la izquierda están escritos los nombres de las enzimas activas:

amilasas —→	almidón	(reacción azul con el yodo).
	↓	
	amilodextrina	dextrinas (coloidales): la amilodextrina aun da reacción azul o violeta con el yodo; la eritrodextrina la da roja, y la acrodextrina no da ninguna reacción. En rigor ya comienza a separarse maltosa de la primera dextrina.
	↓	
dextrinasas →	eritrodextrina	
	↓	
	acrodextrina	
	↓	
maltasas —→	maltosa	azúcares (cristaloides, reductores).
	↓	
	glucosa	

Los trabajos más recientes de SCHARDINGER, PRINGSHEIM y KARRER (1), nos conducirían a otras conclusiones y nos obligarían a abandonar este viejo esquema. Tanto es así, que SCHARDINGER ha descrito en ciertos procesos de fermentación del almidón la *dextrina cristalina*, que resultaría de la suma de 2 ó 3 complejos $C_6H_{10}O_5$. Así pues, la dextrina dejaría de ser una mezcla de cuerpos ignotos o complejos moleculares indefinidos (algo por el estilo de las peptonas en el campo de los proteicos y sus derivados) para convertirse en substancias mejor definidas. PRINGSHEIM llama *amilosas* a las substancias elementales

(1) Los trabajos de KARRER se encuentran en *Helvetica chimica Acta*, 1920-22. Un breve y claro resumen, suficiente para el biólogo, se hallará en la *Deutsche med. Woch.*, 1923, n.° 33. Las investigaciones de PRINGSHEIM se han publicado en los *Ber. d. deut. chem. Gesellsch.*, 1912 (vol. XLV) y siguientes.

de cuya polimerización resultan los almidones, que no serían otra cosa que *anhídridos de los disacáridos* u otros sacáridos compuestos. Los componentes fundamentales serían las diamilosas y triamilosas, siendo la *diamilosa* un *anhídrido de la maltosa* (disacárido) y la triamilosa un anhídrido de un trisacárido. *El almidón no sería otra cosa que diamilosa polimerizada* (desde tetra a octamilosas), o sea, que no estaría constituído según el tipo de cadena larga, en la cual cada uno de los monosacáridos constitutivos está unido como en los glucósidos, según el esquema presentado antes, sino que estaría integrado por moléculas de diamilosa, o sea realmente por moléculas de *disacárido*, enlazadas flojamente por *valencias accesorias*. En efecto, como KARRER ha demostrado, si se tuviese una cadena de moléculas de glucosa, ligadas por uniones glucósicas:

$$(C_6H_{11}O_5 - O - C_6H_{10}O_4 - O - \ldots\ldots C_6H_{10}O_4 - O - C_6H_{11}O_5),$$

en la escisión del almidón se deberían obtener por lo menos $1/3$ de glucosa y el resto de maltosa. Por el contrario, al tratarlo por bromuro de acetilo, todo o casi todo el almidón se transforma en heptacetilmaltosa, de la misma manera que la maltosa misma: luego el almidón (y lo mismo puede decirse del glucógeno) está constituído por moléculas de maltosa y no de glucosa, lo que equivale a decir que estos polisacáridos son agregados moleculares de anhídridos de disacáridos. Su fórmula general viene a ser, por lo tanto, $(C_{12}H_{20}O_1)_n$. No parece que n sea muy elevado para el almidón y el glucógeno. La polimerización del azúcar (maltosa) en almidón sería casi comparable a un proceso de floculación coloidal: las moléculas de la diamilosa se agregarían formando complejos más elevados en virtud de sus valencias accesorias, no reaccionando entre sí con eliminación de moléculas de agua. Las dextrinas no son más que etapas diversas de este proceso de agregación. En el proceso inverso, por ejemplo en la digestión del almidón, se obtendría primero la disgregación de los complejos coloidales y la liberación de la amilosa, *sin empleo alguno de moléculas de agua*. Después, una vez llegados a la maltosa, empezaría el verdadero proceso *químico* de escisión hidrolítica con formación de glucosa. La glucosa es el término fundamental del metabolismo de los hidratos de carbono.

La celulosa tendría una estructura idéntica: estaría constituída por la agregación de moléculas de celosana (anhídrido de la celobiosa) correspondientes a la diamilosa. Las bacterias intestinales de los herbívoros pueden atacar la celulosa, resolviéndola en celobiosa y glucosa, por lo cual aquellos animales (pero seguramente no el hombre) pueden utilizarla con fines alimenticios.

d) FERMENTACIÓN.

Es un proceso que interesa a la Bioquímica animal, no sólo porque la determinación de la diversa aptitud de los azúcares a fermentar con las levaduras tiene importancia analítica, sino también porque

hay una gran analogía entre las transformaciones que sufren los hidratos de carbono en el organismo animal y las producidas por la acción de los *fermentos organizados* (término que se empieza a abandonar) o *levaduras*, que no son más que cultivos de microorganismos vegetales *(blastomicetos)*.

En los casos típicos las *fermentaciones* consisten en la escisión de las moléculas de los azúcares, operación que tiene lugar, sin la intervención del oxígeno atmosférico, por la acción de microorganismos vegetales de rápido desarrollo (bacterias, blastomicetos, hifomicetos, ascomicetos, etc.). La disgregación y dislocación molecular que constituye el hecho químico de la fermentación no llega a los últimos productos de escisión y oxidación que serían CO_2 y agua, sino que generalmente en cada fermentación el microorganismo que la provoca hace recorrer al azúcar uno sólo o pocos grados en la escala de la degradación de la substancia orgánica, por lo cual el rendimiento en energía es escaso en el proceso de la fermentación. Pero, como el microorganismo se sirve precisamente de la energía liberada en la fermentación para cubrir sus necesidades energéticas, se comprende que es necesario compensar con el ataque de una gran masa de azúcar la escasez de rendimiento debida a la limitación de la disgregación molecular. En el ejemplo más típico, la fermentación *alcohólica*, vemos que la glucosa del mosto es disgregada en CO_2 y alcohol etílico ($CH_3 \cdot CH_2OH$) conforme a la igualdad siguiente (GAY-LUSSAC): $C_6H_{12}O_6 = 2CO_2 + 2C_2H_6O$. En este proceso la glucosa rinde apenas $^1/_{10}$ de la energía que suministraría si fuese completamente descompuesta en CO_2 y H_2O, o sea que una gran parte (más de los $^1/_{10}$) de la energía contenida en el azúcar queda retenida en el alcohol. He aquí una diferencia fundamental entre la actividad de la célula del microorganismo (un blastomiceto, el *saccaromyces* en el caso de la fermentación alcohólica) y la de la célula animal: ésta sabe oxidar el azúcar hasta sus productos terminales aprovechando completamente la energía, mientras que aquélla produce sólo dislocaciones y escisiones moleculares de naturaleza anaerobia, con un rendimiento energético mucho menor. Pero la célula del miceto actúa sobre masas relativamente enormes de alimento que compensan la pobreza del rendimiento energético, mientras que la célula animal necesita menos cantidad de alimento

De todos modos es probable que la primera fase del proceso de ataque del azúcar (glucosa) en el organismo sea bastante similar al proceso de fermentación alcohólica y, como éste, sea perfectamente anaerobia, con producción de productos intermediarios parecidos (con 3 átomos de C). Sólo más adelante se diferenciarían los dos procesos entrando en escena en el organismo animal los fenómenos de oxidación a expensas de aquellos productos intermedios.

Se deben a NEUBERG (1) los estudios más completos sobre la fermentación alcohólica, de la que PASTEUR, como es sabido, descubrió la naturaleza biológica. Actualmente sabemos bien que los blastomicetos (levaduras) no obran sobre la glucosa por una misteriosa actividad vital, sino en virtud de enzimas contenidas en las células del organismo que son activas, aun cuando por prensación se haya destruído la vida de la célula (BUCHNER). Se llama *zimasa* la enzima o fermento soluble activo en la fermentación alcohólica. Los blastomicetos de la levadura común (levadura de cerveza) atacan bien las tres llamadas *zimohexosas*, esto es: la d-glucosa, d-fructosa (o levulosa) y la d-manosa. La galactosa fermenta difícilmente, y algunas especies de levaduras ni siquiera la atacan. De los disacáridos fermentan la sacarosa y la maltosa, porque las levaduras contienen también invertasas que los invierten primero, permitiendo la fermentación de los monosacáridos resultantes. La lactosa no fermenta por la acción de las levaduras corrientes, pero varias bacterias (del grupo del *b. coli*) la atacan con producción de gas y de ácidos orgánicos. El ácido glicurónico no fermenta. Tampoco fermentan las pentosas. Los polisacáridos pueden fermentar porque ciertos microorganismos los despolimerizan en monosacáridos, generalmente de una manera limitada. Sin embargo, algunos microorganismos pueden atacar los disacáridos (y polisacáridos ?) aun sin escindirlos primero.

(1) Ultimos años de la *Bioch. Zeitschr.*

La fermentación se desarrolla por debajo de 45°, en ausencia o con presencia de oxígeno libre.

Hay agentes activantes de la fermentación alcohólica, que actúan como *cofermentos*: si se dializa la zimasa, pierde el poder fermentativo que recobra al reunirla con el dializado; contiene, pues, un cofermento necesario, dializable y termoestable. Otro cofermento parecido se encuentra también en los tejidos animales, y así el músculo contiene un cofermento capaz de activar tanto la fermentación por las levaduras como la combustión en el músculo mismo. No se sabe con certeza que función precisa tiene un éster del azúcar con el ácido fosfórico (zimofosfato) que aparece en la fermentación (en los líquidos fosforados fermentados no falta nunca); parece que es un escalón intermedio e importante del ataque de la glucosa en el músculo (véase Parte II, sección III, capítulo VII).

Según NEUBERG, el proceso químico fundamental de la fermentación alcohólica y de sus varias modificaciones consiste en la escisión inicial de la glucosa en cadenas triatómicas de C. Así, pues, la glucosa se resuelve en triosas, probablemente glicerinaldehidos y dioxiacetonas:

$$\begin{array}{l} CH_2O \cdot H \\ | \\ CH \cdot OH \\ | \\ COH \end{array} \qquad \begin{array}{l} CH_2 \cdot OH \\ | \\ CO \\ | \\ CH_2 \cdot OH. \end{array}$$

Pero el término intermedio más importante y seguro, siendo las dichas triosas poco atacables en sí, es el *metilglioxal* $CH_3.CO.COH$,

que corresponde al glioxal COH·COH metilsustituído. Este, como se ve por la fórmula, corresponde a las triosas citadas menos una molécula de agua, y tiene por decirlo así una posición central en el proceso completo. En efecto ; de él, por simple oxidación, se pasa fácilmente al *ácido pirúvico* $CH_3 \cdot CO \cdot COOH$, y por pérdida de CO_2 o descarboxilación de éste se pasa a $CH_3 \cdot COH$ o aldehido acético.

Ahora bien ; NEUBERG ha hecho el descubrimiento fundamental de que las levaduras contienen una enzima, la *carboxilasa*, capaz de separar CO_2 del carboxilo de los ácidos orgánicos, por ejemplo de los ácidos quetónicos como el pirúvico, y así se ha comprobado que el CO_2 se forma en este proceso de la fermentación alcohólica por simples procesos de dislocación molecular, no por oxidación directa mediante el O atmosférico que no es necesario. Veremos como esto también puede aplicarse a la doctrina de las oxidaciones en los animales. ¿ Mas, de dónde proviene el oxígeno que oxida al metilglioxal hasta ácido pirúvico, si excluímos el O atmosférico ? He aquí otro punto de gran importancia para lo que deberemos decir acerca de las combustiones en los animales. Este O procede del agua, siempre presente en abundancia, la cual puede proporcionar, escindiéndose, su oxígeno a las substancias fácilmente oxidables cuando existen substancias reducibles o hidrogenables aptas para apoderarse de su hidrógeno o, como se dice, capaces de *actuar de receptores* de hidrógeno. En el proceso normal de fermentación alcohólica, el acetaldehido está en disposición de ejercer esta función :

$$CH_3 \cdot COH + H_2 = CH_3 \cdot CH_2OH ;$$

es decir, que el acetaldehido se transforma, reduciéndose, en alcohol etílico.

La presencia de otros aldehidos y de otros compuestos, también capaces de actuar como receptores del H, aceleran naturalmente el proceso o son necesarios para encaminarlo ; así obran los α-cetoácidos o ácidos quetónicos α (hecho que debemos tener presente porque los α-cetoácidos se originan en el metabolismo proteico del organismo) transformándose con el H_2 de la fermentación en α-oxiácidos.

Tenemos, pues, en este tipo fundamental de fermentación una oxidación (del metilglioxal a ácido pirúvico) asociada con una reducción simultánea (del acetaldehido a alcohol ; también otros cuerpos pueden actuar como *receptores* del hidrógeno). En estas operaciones el agua obra como suministradora del O para la oxidación y del H para la reducción. El oxígeno atmosférico, *no necesario*, puede actuar a su vez como receptor del hidrógeno, ayudando pues al proceso de la fermentación en este sentido : se comprende que en este caso se regenerará agua.

NEUBERG ha definido también algunos otros tipos de fermentación. Uno de ellos es aquel (el 2.° tipo) en el cual con sulfitos u otras substancias especiales capaces de retener los aldehidos, se sustrae a

la reacción el aldehido acético formado, o sea que se le coloca en condiciones de no poder ser reducido por el H de la fermentación del alcohol. ¿ Qué se hace entonces de este H ? Va a reducir las triosas intermediarias que probablemente hacen una aparición rápida. Así debe suceder con el aldehido glicérico, pues en este caso se produce glicerina. La reacción es entonces :

$$C_6H_{12}O_6 = \underset{\substack{\text{Aldehido acético}\\ \text{(fijado por el sulfito}\\ \text{u otro « receptor »}}}{CH_3COH} + CO_2 + \underset{\text{Glicerina}}{C_3H_8O_3}$$

Hay un tercer tipo semejante al precedente en cuanto al destino del H (que reduce el aldehido acético a glicerina), pero en este caso el aldehido acético no es fijado por ninguna substancia, sino que sufre la llamada *reacción de* CANNIZZARO porque una parte del aldehido se oxida a ácido (acético) y otra porción se reduce a alcohol (etílico), siendo siempre el agua la que procura por escisión (proceso hidroclástico) el O y el H_2. He aquí como podemos representar en este caso la reacción de CANNIZZARO (que también hallaremos en los animales, acelerada por enzimas especiales, las *aldehidomutasas)* :

$$\left.\begin{matrix} CH_3 \cdot COH \\ CH_3 \cdot COH \end{matrix}\right\} + \left\{\begin{matrix} H_2 \\ O \end{matrix}\right. = \begin{matrix} CH_3 \cdot CH_2OH \text{ (alcoholetílico)} \\ CH_3 \cdot COOH \text{ (ácido acético).} \end{matrix}$$

Así, pues, al final de este tipo 3.° se encuentran, además del CO_2, alcohol, ácido acético y glicerina.

Un cuarto tipo sería el de la fermentación *butírica*, en la cual una parte del ácido pirúvico, formado como de costumbre, es condensado y se transforma en *ácido butírico*. Parte del H de fermentación queda libre en estado gaseoso

Intimamente relacionada con la fermentación alcohólica está la *láctica*, en la cual el producto principal es el ácido láctico (racémico, inactivo, que da sales de zinc insolubles en alcohol y poco solubles en el agua). También aquí se forman como productos intermediarios, las triosas, de las cuales el ácido láctico es un isómero, pues su fórmula es $(CH_3 \cdot CH(OH) \cdot COOH$ (ácido α-oxipropiónico), esto es, $C_3H_6O_3$. Pero también del metilglioxal, por simple admisión de agua, se forma ácido láctico, y sabemos que existe una enzima, la *glioxalasa de* NEUBERG y DAKIN, que acelera esta reacción. Así se comprende que basten pequeñas desviaciones del proceso fundamental para tener la fermentación láctica en vez de la alcohólica : ciertas bacterias (por ejemplo las acidificantes de la leche, los llamados *fermentos lácticos)* la producen preferentemente, y parece que las células animales se sirven con frecuencia de este camino para la disgregación de los hidratos de carbono, siendo así el ácido láctico dextrógiro o ácido sarcoláctico un término importante del metabolismo de estas substancias.

El ácido láctico es considerado también como una especie de *producto de estabilización* (Oppenheimer) de los estados intermediarios lábiles (del metilglioxal, por hidratación) :

$$CH_3 \cdot CO \cdot COH + H_2O = CH_3 \cdot CHOH \cdot COOH,$$

estabilización que busca el organismo animal porque el ácido láctico le sirve para fines especiales (así, en el músculo determina probablemente la contracción, por un fenómeno de imbibición de coloides : véase Parte II, sección III, capítulo VII).

Debemos recordar que además de estas fermentaciones verdaderas (anaerobias) existen las *oxidofermentaciones*, esto es, los procesos oxidantes corrientes de las substancias orgánicas por la acción de microorganismos : la fermentación acética (alcohol → ácido acético) por medio de un *micoderma*, es un ejemplo de ellas. También los azúcares pueden sufrir procesos de este género.

e) Aminoazúcares. Azúcares cíclicos.

Trataremos aquí de los compuestos que tienen relaciones genéticas más o menos seguras con los hidratos de carbono, asociándolos únicamente por razones didácticas.

Los *aminoazúcares* representan probablemente estados intermedios de enlace entre los hidratos de carbono y los aminoácidos. Estos últimos, son los componentes principales de los albuminoides.

Por reducción de los aminoácidos se obtienen fácilmente aminoaldehidos :

$$R - CH \cdot NH_2 - COOH \longrightarrow R - CH \cdot NH_2 - COH$$

y los aminoazúcares tienen en realidad el carácter de aminoaldehidos. Un aminoazúcar importante es la d-glucosamina, de la cual señalamos ya la fórmula en la página 51 ; tiene la configuración molecular fundamental de la manosa y da con la fenilhidracina la misma osazona que este azúcar y que la glucosa. La d-glucosamina se llama también *quitosamina* porque se obtiene abundantemente por hidrólisis de la *quitina*, una substancia que constituye la coraza y las envolturas tegumentales y aún reviste superficies internas de los artrópodos (considerada como una acetilglucosamina polimerizada). La glucosamina o quitosamina es, pues, un verdadero azúcar en el cual un OH (el que está unido al C más próximo al grupo aldehídico) se ha sustituído por el grupo amínico NH_2 ; es, pues, una hexosa aminosustituída o *hexosamina* y se comprende que este cuerpo, teniendo libre el grupo aldehídico, sea reductor.

De los cartílagos y de los tendones de varios animales, se aisla otro compuesto semejante, que también es una hexosa aminosustituída : la *condrosamina*. Por hidrólisis de varios albuminoides complejos como la mucina, la substancia mucosa de los quistes del ovario, etc. (llamados también *glucoproteídos*) resultan también aminoazúcares y, por lo regular, la glucosamina típica. La condrosamina de los cartílagos y la glucosamina de las llamadas substancias mucosas se encuentran generalmente en forma de éster con el ácido sulfúrico. Son combinaciones complejas de estos aminoazúcares con el ácido sulfúrico, el ácido *condroitinsulfúrico* de los cartílagos y de los tendones y el ácido *mucoidinsulfúrico* de la mucina de las mucosas, de la saliva, etc. ; el azúcar que contiene el primero, es la condrosamina, y el del segundo, la glucosamina.

El ácido condroitinsulfúrico (encontrado también en la substancia *amiloide* que es un producto patológico) tiene esta composición compleja :

$$\underset{\text{(condrosina)}}{(\text{condrosamina} + \text{ácido glicurónico})} \begin{cases} \text{grupo acetílico} \\ \\ \text{ácido sulfúrico.} \end{cases}$$

En otros términos : el ácido condroitinsulfúrico se divide por hidrólisis en ácido sulfúrico y en la llamada *condroitina*, la cual posteriormente da condrosina y ácido acético ; la condrosina se divide, por último, en ácido glicurónico y lucosamina :

$$\underset{\text{ac. condroitinsulfúrico}}{C_{18}H_{27}NSO_{17}} + H_2O = H_2SO_4 + \underset{\text{condroitina}}{C_{18}H_{27}NO_{14}}$$

$$C_{18}H_{27}NO_{14} + 3H_2O = \underset{\text{ac. acético}}{3C_2H_4O_2} + \underset{\text{condrosina}}{C_{12}H_{21}NO_{11}}$$

$$C_{12}H_{21}NO_{11} + H_2O = \underset{\text{ac. glicurónico}}{C_6H_{10}O_7} + \underset{\text{glucosamina}}{C_6H_{11}NH_2O_5}$$

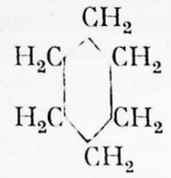
Los ácidos mucoidinsulfúricos de la mucina salival, líquidos de los quistes, etc., tienen composición semejante, resultando siempre al final *restos acetílicos, un aminoazúcar*, un *azúcar* o su derivado y *ácido sulfúrico* (1).

Se ve, pues, que la quitina de los insectos y crustáceos, que es un derivado acetilado de un aminoazúcar tiene analogía con una parte de la molécula de los ácidos orgánicos complejos existentes en las substancias mucosas y cartilaginosas. Esta analogía se presta según Matehws a consideraciones embriogenéticas y filogenéticas (analogías químicas entre los tejidos tegumentales y de sostén en los vertebrados y en los artrópodos).

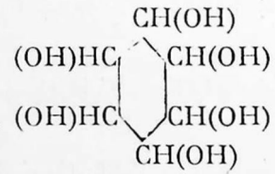
Merecen también algunas palabras los llamados *azúcares cíclicos*, que derivan del hexahidrobenceno, es decir, que contienen un anillo de 6 átomos de C como el benceno, pero con pérdida de las dobles valencias que existen en el benceno y adquisición de 6 átomos más de H.

(1) Levene, *Zeitschr. für phys. Chem. Br.*, XXXI, 1900.

El hexahidrobenceno es :



Las substancias que de él derivan, se llaman *hidroaromáticas* (entran pues en la serie isocíclica o carbocíclica). A este grupo pertenecen probablemente la *esterina*, de la que hablaremos junto con los lipoides, ya que tiene relaciones biológicas íntimas con estas substancias. Aquí solamente queremos citar los *azúcares cíclicos* o *ciclosas* que tienen la fórmula empírica $C_6H_{12}O_6$, pero que están constituídos de manera completamente distinta de los verdaderos azúcares. Poseen también sabor dulce y pueden dar lugar a derivados furánicos como los azúcares : debe, pues, existir alguna relación bioquímica entre ellos. El más típico es el hexaoxihexahidrobenceno, esto es, el hexahidrobenceno con 6 hidróxidos en lugar de los 6 H, llamado también *i-inosita* (ópticamente inactivo) :



La inosita se encuentra en varios tejidos animales y más frecuentemente en los vegetales al estado de éster fosfórico, o *fitina*, en la cual 6 radicales fosfóricos están soldados alrededor del anillo de oxihidrobenceno. Las habichuelas verdes, son muy ricas en inosita ; se la ha encontrado, desde 1861 por GALLOIS, en las orinas diabéticas y también en la glucosuria experimental por punción del cuarto ventrículo, por la floridcina, etc.

En los peces cartilaginosos se ha descrito una *escilita*, que es quizás una ciclosa.

CAPÍTULO VI

Ceras, grasas y lipoides

Las *ceras* son ésteres de ácidos grasos con alcoholes monovalentes de la serie grasa. Las *grasas* son también ésteres de ácidos grasos, pero el alcohol que entra en combinación con el ácido es la glicerina (ésteres glicéricos o *glicéridos)* o, en algunos cuerpos grasos propios de ciertos órganos normales (porción cortical de las glándulas suprarrenales) o patológicos, la colesterina (ésteres colesterínicos). Estos ésteres colesterínicos que, como la colesterina pueden encontrarse en casi todas las células, por razones que no son de orden químico sino solamente biológicas, se acostumbran a estudiar junto con unos compuestos en los cuales se encuentran radicales de los ácidos grasos combinados con compuestos nitrogenados y fosforados. Dichas combinaciones poseen cierta similitud (solubilidad, caracteres físicos, etc.) con las grasas, pero frecuentemente contienen nitrógeno, fósforo y, algunas veces, azufre, y se agrupan bajo la denominación de *lipoides*, actualmente aceptada por los biólogos. MATHEWS reúne las ceras, las grasas verdaderas (ésteres glicéricos) y los lipoides bajo la denominación común de *lipinas*. En realidad, este grupo es ligeramente heterogéneo : podríamos decir que en él se hallan todos aquellos componentes del organismo que son más o menos solubles en los llamados *disolventes de las grasas* (alcohol, éter, éter de petróleo, cloroformo) que son insolubles en el agua y que tienen un aspecto untuoso, conocido generalmente con el nombre de graso. Tienen todos tendencia a disminuir la tensión superficial del agua, tanto si se disuelven en pequeña cantidad como si son muy solubles en ella, como pasa con los jabones.

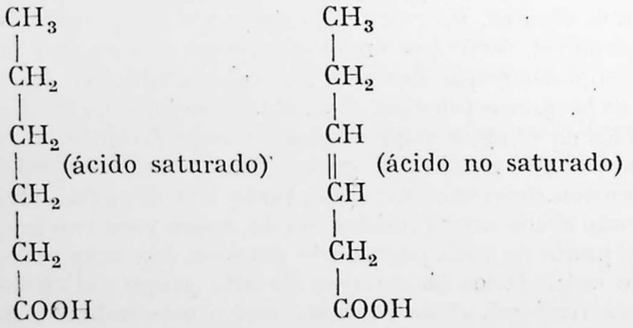
Desde el punto de vista puramente químico, hay muy pocos puntos de contacto entre todos los cuerpos de este grupo : el carácter más común es, en realidad, el de contener uno o más radicales de ácidos grasos diversamente combinados. Estos ácidos grasos pertenecen en gran parte a la serie $C_nH_{2n}O_2$ *(serie saturada)*.

El primer ácido de esta serie es el fórmico, H·COOH, que se encuentra libre en una secreción de las hormigas y del cual también hay indicios en la sangre y en la orina de los mamíferos, procedente

quizás de la oxidación de la glicerina. También se hallan en el organismo indicios de varios miembros inferiores de esta misma larga serie (acético, propiónico, butírico), especialmente en las heces, orina, sudor, y en los sitios en que se desarrollan acciones bacterianas, porque pueden formarse ácidos grasos inferiores por acción de las bacterias sobre los aminoácidos (por desaminación) o sobre los hidratos de carbono (como en la llamada fermentación butírica). Pero el ácido acético se forma también en el metabolismo intermediario de los organismos superiores, como veremos en su lugar, y el ácido butírico se encuentra como éster glicérico (monobutirina) en la grasa de la leche o manteca, por lo cual es un producto metabólico de las células secretoras de la glándula mamaria (lo mismo puede decirse del ácido caproico).

Adviértase desde ahora que en el metabolismo intermediario de los organismos superiores se forman casi exclusivamente ácidos grasos con un *número par* de átomos de carbono. Los más difundidos son dos ácidos superiores, el *palmítico* y el *esteárico*, que son respectivamente: $C_{15}H_{31}\cdot COOH$ y $C_{17}H_{35}\cdot COOH$, con punto de fusión a 62° y 69°,2; estos son los principales constituyentes de las grasas animales.

También se encuentran *ácidos no saturados*, los cuales probablemente tienen una gran importancia biológica; el más abundante es el *ácido oleico* de la serie $C_nH_{2n-2}O_2$, que tiene por fórmula $C_{17}H_{33}\cdot COOH$. Este ácido, como todos los ácidos grasos de la serie $C_nH_{2n-2}O_2$, contiene en su molécula una doble valencia entre dos átomos de carbono: la diferencia entre los ácidos saturados y los no saturados está precisamente en el hecho de que estos últimos contienen en su cadena de átomos de C un doble enlace, producido por la falta de H, doble ligadura que puede abrirse dando lugar a la fijación de H o de elementos capaces de sustituir al H, como los halógenos (yodo). Podemos representar los dos tipos de cadenas del modo siguiente:



(en el ácido oleico el doble enlace está hacia la mitad de la cadena, entre el 9° y 10° C a partir del carboxilo).

El ácido nitroso transforma el ácido oleico en un isómero (ácido elaidínico) que es sólido a la temperatura ordinaria, a diferencia del

ácido oleico (punto de fusión de este: + 14°; del ácido elaidínico: + 50°). Esta reacción se utiliza para reconocer el ácido oleico en los aceites.

Existen series de ácidos grasos todavía menos saturadas que la del ácido oleico, esto es, con varios enlaces dobles: en el reino vegetal existe el ácido linólico y el linoleico (respectivamente $C_{17}H_{31}\cdot COOH$ y $C_{17}H_{29}\cdot COOH$; éstos tienen, respectivamente, dos y tres pares de átomos de C unidos por una doble valencia) del aceite de las semillas del lino; en el reino animal, en ciertos lipoides, se encuentran, como veremos en seguida, ácidos grasos fuertemente no saturados. Los ácidos grasos no saturados tienen poder reductor (la reacción ósmica de las grasas, usada por los histólogos, se basa en la presencia en las grasas animales de ácidos no saturados y en la consiguiente reducción del tetraóxido de osmio: OsO_4 a óxidos inferiores, negros, solubles en las mismas grasas), es decir, que se oxidan fácilmente y al hacerlo rompen su cadena por el enlace o los dobles enlaces, dando origen a cadenas de menor número de átomos de C.

Los ácidos grasos no saturados están pues dotados de mayor actividad que los saturados: son menos estables, más fácilmente oxidables y precisamente se encuentran en los puntos de mayor intensidad metabólica, en los órganos con intensa actividad funcional, mientras que los saturados, más estables, predominan en las grasas de reserva.

Los ácidos grasos tienen poca afinidad por el agua, tanto que son insolubles en ella y, como las distintas grasas y lipoides que los contienen, tienen tendencia a extenderse formando una capa sobre la superficie del líquido. Pero no puede decirse que no tengan ninguna afinidad para el agua; quizás aquí entran también en juego valencias accesorias o secundarias como en los fenómenos de adsorción y en otros procesos físico-químicos, y éstas obran especialmente entre el grupo carboxílico y el agua. En efecto, Langmuir y Harkins en sus trabajos (1), destinados a poner en evidencia cómo la estructura y disposición molecular y las valencias residuales de los átomos son factores importantes de la energía de superficie, encontraron que cuando un líquido se dispone en capa encima de otro, las respectivas moléculas se orientan de acuerdo con las valencias accesorias. Así, si encima de agua se coloca ácido oleico en capa delgadísima y monomolecular, los grupos metílicos de él se sitúan hacia el exterior y los carbóxilos hacia el agua subyacente, por la mayor afinidad que tienen con ella. Si todos los grupos atómicos de las moléculas grasas tuviesen una afinidad uniforme para el agua, la molécula misma se dispersaría uniformemente por el agua y se obtendría una solución y no estratificación.

Este es un paradigma importante para la concepción de la estructura físico-química del protoplasma, en el cual quizás se encuentren frecuentemente membranas lipoides estratificadas sobre fases acuosas.

(1) Resumidos por Cesana, en *Rass. Scienze biol.*, IV, 2, 1922.

Veamos ahora brevemente los principales grupos de substancias clasificables como grasas y lipoides.

a) Ceras.

Están muy difundidas en los dos reinos y son, como se ha dicho, ésteres de los ácidos grasos con diversos alcoholes monovalentes. En el reino animal sirven frecuentemente para constituir envolturas o capas protectoras impermeables al agua : recordemos el ejemplo tan típico de las abejas, que construyen con cera las celdas de sus colonias.

Las ceras son producidas por varios artrópodos : hay la cera del *Coccus cerifera* de China, la cera de la *Psylla alni* en Finlandia y la de la cochinilla. La cera de las abejas es la más importante : estos insectos la producen en el metabolismo intermediario de los hidratos de carbono ; no es, pues, cierto que utilicen ceras vegetales ya formadas.

También es una cera la secreción de la glándula esteatopigia de las aves acuáticas, con la cual lubrifican sus plumas para evitar que se mojen. Lo es también el mal llamado *esperma de ballena* o *espermaceti*, substancia grasa que algunos cetáceos *(Physeter macrocephalus)* producen en una glándula cefálica y en otras glándulas superficiales del cuerpo, con el fin evidente de protegerse contra el agua del mar.

La composición de algunas de estas ceras animales es la siguiente :

Cera de Psylla : éster del *ácido psílico* ($C_{32}H_{65}\cdot COOH$) con *alcohol psílico* que pertenece a las esterinas y es el $C_{33}H_{67}OH$.

Cera de abejas : mezcla bastante compleja. En ella se encuentran el *ácido cerótico* ($C_{25}H_{51}\cdot COOH$) y el *melísico* ($C_{29}H_{59}\cdot COOH$) que pertenece a la serie de los ácidos saturados (serie acética) y el éster del ácido palmítico con el alcohol *miricico* o *melísico* ($C_{30}H_{62}O$). También se ha encontrado en ella el *alcohol cetílico* ($C_{16}H_{34}O$) combinado como éster con cualquiera de los ácidos grasos superiores antedichos.

Secreción de la glándula esteatopigia de las aves : se encuentran ésteres del *alcohol cetílico* ya citado ($C_{16}H_{34}O$) y sobre todo del *alcohol octadecílico* ($C_{18}H_{38}O$). Todos estos alcoholes son alcoholes monovalentes, primarios, homólogos superiores del alcohol metílico ($H\cdot CH_2OH$) y del etílico ($CH_3\cdot CH_2OH$).

Espermaceti : algunos componentes son mal conocidos ; uno de los más abundantes es el éster del ácido palmítico con el *alcohol cetílico*, ya citado, de 16 átomos de C.

El sebo de los mamíferos y del hombre contiene también grasas diversas, pero entre los varios ésteres abundan particularmente (como en la *lanolina* o grasa de la lana de oveja) los de la colesterina (que actúa como alcohol secundario, pero que es un cuerpo cíclico, del cual hablaremos al tratar de los lipoides).

b) Grasas neutras (glicéridos).

Se trata de ésteres de varios ácidos grasos con la glicerina, alcohol trivalente cuya fórmula es la siguiente : $CH_2OH\cdot CHOH\cdot CH_2OH$. La glicerina contiene tres grupos alcohólicos (dos primarios y uno secundario) y por lo tanto tres hidróxilos capaces de reaccionar con ácidos grasos de la manera acostumbrada (esterificación), esto es, colocándose un radical graso en el lugar de un H del hidróxilo. Se trata, pues, de una reacción en la que se elimina una molécula de agua por cada molécula de ácido graso que entra en combinación con un grupo alcohólico. La glicerina se encuentra en las grasas neutras combinada con tres radicales ácidos y, por lo tanto, se habla de *triglicéridos*. Las grasas más comunes (por ejemplo, la del tejido subcutáneo y de otras reservas de los mamíferos) son mezclas de los triglicéridos siguientes :

Tripalmitina : la molécula de glicerina está combinada con tres moléculas de ácido palmítico ;

Triestearina : la molécula de glicerina está combinada con tres moléculas de ácido esteárico ;

Trioleína : la molécula de glicerina está combinada con tres moléculas de ácido oleico.

He aquí la fórmula de los tres glicéridos, con su punto de fusión :

$$\begin{array}{l} C_{15}H_{31}\cdot CO - O\cdot CH_2 \\ \qquad\qquad\quad | \\ C_{15}H_{31}\cdot CO - O\cdot CH \\ \qquad\qquad\quad | \\ C_{15}H_{31}\cdot CO - O\cdot CH_2 \end{array}$$

Tripalmitina : + 62°

$$\begin{array}{l} C_{17}H_{35}\cdot CO - O\cdot CH_2 \\ \qquad\qquad\quad | \\ C_{17}H_{35}\cdot CO - O\cdot CH \\ \qquad\qquad\quad | \\ C_{17}H_{35}\cdot CO - O\cdot CH_2 \end{array}$$

Triestearina : + 71°,5

$$\begin{array}{l} C_{17}H_{33}\cdot CO - O\cdot CH_2 \\ \qquad\qquad\quad | \\ C_{17}H_{33}\cdot CO - O\cdot CH \\ \qquad\qquad\quad | \\ C_{17}H_{33}\cdot CO - O\cdot CH_2 \end{array}$$

Trioleína : — 4°

En la manteca existen glicéridos de ácidos grasos inferiores (butírico y caproico) y en la grasa de los vertebrados inferiores (peces) se encuentran glicéridos de ácidos grasos no saturados distintos del oleico, por ejemplo del *ácido gadoleínico* ($C_{19}H_{37}\cdot COOH$) o también de una serie aun menos saturada (como el *ácido clupanodónico :* $C_{18}H_{28}\cdot COOH$), cuya cadena de átomos de C es ramificada.

Se llaman *aceites*, aquella grasas neutras que son líquidas a la temperatura ordinaria, como los aceites vegetales (aceite de olivas : compuesto en gran parte de trioleína) y como la grasa de los vertebrados inferiores y de sangre fría (peces) que tienen un punto de fusión bajo y son líquidas a la temperatura ordinaria. Por el contrario,

las grasas de los vertebrados superiores tienen generalmente mayor consistencia, por contener glicéridos de punto de fusión más elevado. Todos ellos son tanto más fácilmente oxidables cuanta mayor cantidad de ácidos no saturados poseen. Hay aceites vegetales, riquísimos en ácidos grasos no saturados, que se oxidan rápida y espontáneamente en contacto del aire ; son los aceites capaces de secarse o *secantes*, usados por los pintores por esta propiedad, como el aceite de semillas de lino (1) y en menor grado el aceite de semillas de algodón. En efecto, el secado no es más que una oxidación progresiva con descomposición y formación (quizás por condensarse ulteriormente los productos de descomposición) de una masa dura y resinosa, mal conocida aun químicamente. MATHEWS hace un parangón brillante, mas no siempre persuasivo, entre la autoxidación de los aceites secantes y la respiración del protoplasma (2).

Pero, más o menos tarde, todas las grasas y aceites se oxidan dando origen, por ruptura de las cadenas de los ácidos grasos superiores, a ácidos grasos inferiores, *volátiles* y, por lo tanto, con marcado olor : este es el proceso llamado de *enranciamiento*.

Insistamos brevemente en los tres triglicéridos fundamentales : están diversamente mezclados en las grasas animales, y éstas tienen diversa consistencia según sean las proporciones de la mezcla. De los puntos de fusión mencionados en la página 73 debajo de las fórmulas respectivas, resulta que la trioleína *(oleína* por brevedad) es líquida aun a temperatura relativamente baja, mientras que la *palmitina* y *estearina* son sólidas a temperaturas moderadamente elevadas. Por lo tanto, una grasa tendrá un punto de fusión tanto más elevado cuanto mayor sea su riqueza en glicéridos de alto punto de fusión, y será éste tanto más bajo cuanta más oleína contenga. La grasa de buey funde a 45°, por ser rica en estearina ; la de cerdo a 40° aproximadamente, porque contiene una cantidad algo menor de este glicérido ; la grasa de oca funde a 32° porque es muy rica en oleína : en el animal vivo es, pues, completamente flúida. Dada una grasa cualquiera, un punto bajo de fusión indica la presencia de ácidos grasos inferiores y saturados o la presencia de ácidos grasos no saturados (como el oleico de la oleína, los de los aceites vegetales secantes o no secantes y los de las grasas flúidas de los peces).

Además de los glicéridos y de una cantidad mayor o menor de ácidos grasos libres, se encuentran en las grasas, como sucede en el organismo humano, diversos lipoides, pigmentos *(lipocromo)* y vitaminas (factor A de las grasas de órganos activos).

Las grasas neutras tienen algunas propiedades comunes: principalmente la *solubilidad en éter* (el éter sirve para extraerlas en un estado de relativa pureza) cloroformo, benceno, alcohol caliente, etc., y, como todas las lipinas, la insolubilidad en el agua.

(1) Contiene especialmente ésteres del ácido linoleico y del isómero isolinoleico ($C_{18}H_{30}O_2$), muy poco saturado.

(2) Estas oxidaciones de los aceites secantes son aceleradas por las sales de manganeso, plomo y hierro, que frecuentemente emplean los pintores en sus mezclas. También la respiración de los tejidos, según MATHEWS, utiliza catalizadores metálicos.

Por ser ésteres glicéricos, todas ellas calentadas a más de 200°, se descomponen, produciendo *acroleína* de olor penetrante característico (el olor de la grasa quemada, de las setas, etc.). En efecto, la acroleína es un aldehido (derivado de un alcohol no saturado) que se forma fácilmente de la glicerina por pérdida de agua (por ejemplo, tratando la glicerina con anhídrido fosfórico o bisulfato potásico) :

$$\begin{array}{l} CH_2OH \\ | \\ CH\ OH \\ | \\ CH_2OH \end{array} \quad -2H_2O = \quad \begin{array}{l} CH_2 \\ \| \\ CH \\ | \\ COH \end{array}$$

Así, pues, una substancia grasa que calentada desprende acroleína, contiene con seguridad uno o más glicéridos.

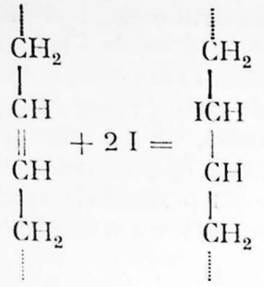
Las grasas puede sufrir una escisión hidrolítica que se llama *saponificación*, es decir, que adicionando tres moléculas de agua por cada molécula de triglicérido, pueden dividirse en ácidos grasos y glicerina. Esta hidrólisis se verifica por la acción del vapor de agua recalentado, por la acción de los ácidos, de los álcalis o de las enzimas (lipasas). Si la disociación hidrolítica es producida por los álcalis, éstos se combinan con los ácidos grasos, formando sales de estos ácidos, llamadas *jabones* (oleato, estearato, etc., de K, Na, Ca, etc.), que aparecen entonces junto con la glicerina. Los *jabones* de los metales alcalinos tienen notable solubilidad en el agua y sus disoluciones tienen la propiedad de formar abundante espuma, porque los *jabones hacen descender muchísimo la tensión superficial del agua disolvente.* En rigor, no se puede llamar jabón al acetato sódico, esto es, a la sal sódica de un ácido graso inferior, porque sus disoluciones carecen de esta propiedad física.

La velocidad de la saponificación de una grasa es proporcional a la concentración en OH-iones de la solución.

En el estudio de las grasas se encuentran características especiales que sirven para definir su composición desde distintos puntos de vista. Un dato constante que no debe descuidarse nunca en la descripción de una grasa, es el *punto de fusión*, ya citado.

Tenemos además las siguientes características, utilísimas para la identificación de las grasas.

El número o índice de yodo (como de hidrógeno o de oxígeno). Los ácidos no saturados, a causa de sus dobles enlaces, pueden, abriendo éstos, tener libres dos valencias con las cuales pueden fijar dos átomos de I, de H o de O por cada ligadura doble. En otros términos : la doble soldadura entre dos átomos de C es un punto de gran poder reaccionante, principalmente para la reducción (fijación de H) u oxidación. He aquí el esquema de la reacción (con I, que es el más comúnmente usado) :



La cantidad (en cgr.) de I que puede ser fijada por un gramo de grasa se llama su número o índice de yodo ; por ejemplo, un gramo de oleína pura fija 0,86 gr. = 86 cgr. de yodo, por lo que el número de yodo de la oleína es 86. El índice de yodo de una grasa es tanto más elevado cuanto más rica es en ácidos no saturados ; así el aceite de semillas de lino (secante) tiene un número de yodo de 175-205 ; el de algodón, 108-110 ; el de oliva (no secante) 97-87 ; el de aceite de hígado de merluza, 167 ; la grasa de oca, 70 ; el sebo de buey, 38-46 ; la grasa de cerdo, 50-70 ; la manteca, 26-38, y la cera de abejas, 8-11. La grasa subcutánea del hombre tiene un número de yodo de 44 a 64 que parece que aumenta con la edad ; la grasa del hígado, riñón y corazón, tiene normalmente un índice más alto : 115-135, pero en condiciones patológicas (adiposidad tóxica), puede tener un número más bajo, vecino al de la subcutánea, argumento éste en favor de la teoría infiltrativa de la metamorfosis adiposa o adiposis patológica (1). En cuanto a la hidrogenación, debemos recordarla porque sirve también industrialmente para transformar ácidos no saturados en saturados, en varias grasas que por ser ricas en los primeros (poco estables y por lo tanto capaces de descomponerse en ácidos inferiores volátiles), esto es, con olor y sabor desagradables no serían comestibles, pero que se transforman en comestibles después de este proceso de hidrogenación.

Puede tener interés para el médico saber que en la hidrogenación industrial se emplean óxidos de níquel como catalizadores y que en las grasas así manipuladas (por ejemplo el aceite de algodón) pueden encontrarse indicios de este metal que tiene una pequeña toxicidad (por lo demás no muy elevada y quizás menos que la de cobre).

La oxigenación es un proceso más complicado. Puede ser más o menos completa y llegar a la ruptura de la cadena de átomos de C ; pueden formarse oxiácidos y cetoácidos, así como los llamados *ozónidos*. La oxigenación parcial eleva frecuentemente la actividad fisiológica de ciertas grasas (el ácido ricinoleico $C_{18}H_{34}O_3$, que es el ácido oleico con un hidroxilo en lugar de un H, es mucho más activo como catártico que el ácido oleico).

(1) Goldberg, *Klin. Woch.*, 1923, n.° 25.

Número o *índice de saponificación*. Es el número de miligramo de KOH necesarios para saponificar un gramo de aceite o de grasa. Se trata, pues, de calentar la grasa con potasa alcohólica en exceso y averiguar después (por titulación con HCl) cuánta potasa ha quedado sin combinarse con los ácidos grasos : la diferencia entre la potasa empleada y la que queda libre después de la saponificación nos dice qué cantidad de potasa se necesita para neutralizar los ácidos grasos que existían como ésteres en la grasa.

Para neutralizar los ácidos grasos liberados después de la saponificación (y por lo tanto presentes antes como ésteres) de un gramo de palmitina se necesitan 209 mgr. de KOH : así, pues, el número de saponificación de este glicérido puro es 209. El de la estearina es 189 y el de la oleína 190. La grasa de los vertebrados superiores, compuesta por estos tres glicéridos, tiene un índice de saponificación intermedio, próximo a 195. Se encuentran números más altos para las grasas que contienen ácidos inferiores, esto es, de molécula más pequeña ; efectivamente, en tal caso, en el gramo de grasa se encontrarán más moléculas y por lo tanto más valencias saturables por el álcali, y se necesitarán más mgr. de KOH para saponificar los ácidos grasos liberados de su unión con la glicerina. Por ejemplo, la manteca tiene un número de saponificación de 227. En cambio, si en la grasa existen materiales no saponificables (colesterina) o ácidos grasos muy elevados (con 22-24 átomos de C) se encuentran números más bajos.

El número de acidez expresa cuantos mgr. de KOH se necesitan para neutralizar (indicador : fenolftaleína) los ácidos grasos *libres* que existen en mayor o menor cantidad en todas las grasas. Para determinarlo se disuelven las grasas en alcohol-éter, se añaden una gotas de fenolftaleína y luego solución alcohólica de potasa hasta que el líquido empiece a tomar coloración rosa. El sebo de buey tiene un número de acidez = 0,5-10 ; la manteca de cerdo = 1-10 ; en la grasa humana oscila entre 1 y 2.

El número de Reichert-Meissl. Se saponifica bien con potasa alcohólica una cantidad dada de grasa, se acidifica luego con ácido fosfórico o sulfúrico para separar los ácidos grasos y se destila después de haber añadido un poco de piedra pómez. Se comprende que sólo destilarán los ácidos grasos volátiles (ácidos inferiores). Si se titula la acidez del destilado con solución n/10 de KOH, se determina así la riqueza de la grasa en ácidos volátiles. Generalmente se llama *número* o *índice de* Reichert-Meissl el número de c. c. de solución n/10 de KOH necesarios para neutralizar los ácidos grasos del destilado procedente de 5 gr. de grasa, tratados como acaba de decirse. Este número es O o próximo al O en las grasas del tejido subcutáneo que constan de glicéridos de ácidos superiores no volátiles ; es de 20-23 para la manteca y de 5-7 para el aceite de palma y de coco. Generalmente es alto en aquellas grasas que tienen un índice de saponificación elevado.

Más adelante hablaremos del metabolismo de las grasas : limitémonos ahora a hacer notar que desde el punto de vista químico las grasas son cuerpos menos oxidados que los hidratos de carbono y que podrían considerarse casi como productos de reducción y condensación de éstos, pues contienen menos O y con frecuencia poseen cadenas de átomos de C muy largas. Desde el punto de vista energético, el sistema grasa + oxígeno tiene mucha mayor energía potencial que el sistema hidratos de carbono + oxígeno : en realidad la combustión de un gramo de grasa produce 9 calorías grandes, mientras que uno de azúcar da solamente 4,1.

c) Lipoides.

Como ya se ha dicho, es éste un grupo muy heterogéneo desde el punto de vista químico. Comprende variadas substancias en cuya molécula entran generalmente radicales de ácidos grasos, y que son más o menos solubles en los disolventes de las grasas, en especial en el *éter*. Muchas de ellas son nitrogenadas o fosforadas, a diferencia de las grasas neutras. Algunas contienen grupos de hidratos de carbono (lipoides reductores). De un modo aproximado podemos decir que pueden considerarse como lipoides todos los materiales existentes en el *extracto etéreo* de un tejido, mientras no sean grasas neutras.

Veremos en seguida la importancia biológica de los lipoides, que probablemente son componentes esenciales del protoplasma, quizás no menos importante que las proteínas, y que tienen una gran especificidad de órgano o tejido. Meyer y Schaeffer (1) consideran constante y típica para cada órgano la cantidad de P unido a los lipoides (fosfátidos).

Comprenden varios grupos naturales de substancias, que estudiaremos brevemente.

Esterinas. Forman un grupo ampliamente representado en el mundo vegetal (fitosterinas varias, la fitosterina de los embriones de grano, etc.) que tienen alguna relación química con los terpenos (aceites esenciales). En efecto, las esterinas, como los terpenos, contienen anillos hidroaromáticos, es decir, anillos de benceno más o menos saturados por la adición de átomos de H, como habíamos visto en el hexahidrobenceno (véase pág. 68). A causa de este parecido con las substancias hidroaromáticas podrían estudiarse las esterinas junto con las ciclosas o azúcares cíclicos.

En el reino animal la esterina principal, muy difundida, es la *colesterina* que podemos considerar como un componente común a todas las células. Se encuentra libre y combinada con ácidos grasos en forma de ésteres. Los ésteres colesterínicos tienen una importante propiedad física : la *birrefringencia*. Abunda mucho en el sistema nervioso central : éste y los cálculos biliares de colesterina son las principales materias primas de donde se extrae. La colesterina cristaliza en lámi-

(1) *Journ. de Physiol. et Pathol. gén.*, XV, 4.

nillas características, planas, que parecen como si estuvieran rotas en un ángulo. Es insoluble en el agua, soluble en alcohol caliente, éter, benceno y acetona. Se disuelve un poco en el agua en presencia de jabones y mucho más en soluciones de sales biliares : éstos son los verdaderos disolventes de la colesterina en la bilis. También se disuelve en ácido oleico. En los líquidos acuosos la colesterina constituye un suspensoide con carga negativa. Funde a 147°. Actividad óptica : $(\alpha)_D^{20°} = -36°$ (en solucion clorofórmica). Número de yodo : 68. Sus ésteres oleico y palmítico son importantes y se hallan presentes en la sangre ; el primero, más común, funde a 42°, y el segundo a 80°. Se puede reconocer cualitativamente la colesterina disolviéndola en cloroformo y disponiendo debajo de este líquido una capa de ácido sulfúrico concentrado : la solución clorofórmica toma color rojo cereza, y el ácido se tiñe de rojo con fluorescencia verde *(reac. de* Salkowski ; también la dan los ésteres, pero más lentamente ; no es específica). También puede reconocerse disolviéndola en alcohol y cloroformo, añadiendo una pequeña cantidad de ramnosa (o de metilfurfurol que se forma en esta reacción a partir de la ramnosa y es propiamente el reactivo) y disponiendo luego debajo una capa de ácido sulfúrico ; se obtiene un hermoso anillo rojo, por reacción del derivado furánico del hidrato de carbono con la colesterina (esta reacción, llamada también *reacción de* Neuberg, por haber sido aplicada por este investigador a la colesterina, corresponde a la *reacción de* Pettenkofer para las sales biliares). Es importante, por ser la base de un método colorimétrico cuantitativo (1), la *reacción de* Liebermann-Bouchard : disolviendo la colesterina en anhídrido acético caliente, dejando enfriar y añadiendo después unas pocas gotas de ácido sulfúrico, se obtiene una coloración rosa, después roja y finalmente un hermoso color verde azulado. Parece que ésta es la reacción más sensible. La colesterina forma compuestos estables, casi insolubles en alcohol-éter, con la digitonina, uno de los principios activos de la digital ; en esto se funda un método gravimétrico para la determinación cuantitativa. Los ésteres de la colesterina no reaccionan con la digitonina : si se quiere determinar toda la colesterina, libre y esterificada, deben saponificarse los ésteres con alcoholato sódico para que toda la colesterina quede en forma libre.

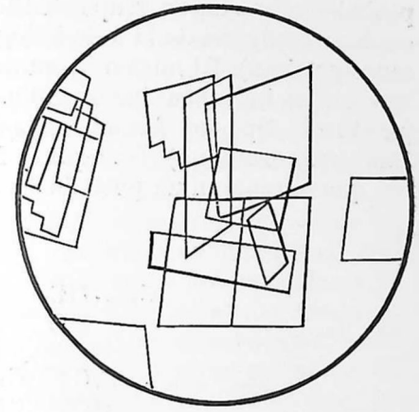
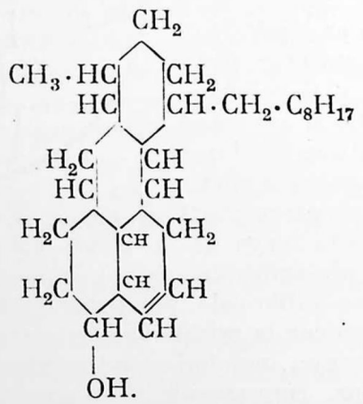


Fig. 2. Cristales de colesterina (de una solución alcohólica)

(1) Grigaut, *Comptes rendus Soc. de Biol.*, LXVIII, 1910.

La estructura de la colesterina ha sido muy profundizada por los estudios de WINDAUS y PANZER, pero no está aún bien determinada. Parece que la esterina vegetal que más se le parece es la fitosterina. Muchos admiten que la colesterina procede de las esterinas vegetales que se ingieren con los alimentos, mientras que otros sostienen su origen endógeno, a partir de componentes acíclicos. No olvidemos la similitud química que existe entre el ácido colálico de la bilis y la colesterina, también abundante en la bilis.

La fórmula empírica es $C_{27}H_{46}O$. Parece ser cierto que existe en ella un grupo alcohólico (secundario) CHOH como se desprende de su aptitud para formar ésteres. Posee por lo menos un doble enlace, probablemente en un grupo vinílico $-CH = CH_2$, doble ligadura que explica la adición de H o de halógenos ; quizás también hay dos (ozónidos posibles). El núcleo de su molécula debe contener por lo menos tres anillos hidrobencénicos unidos entre sí formando quizás un compuesto del tipo del fenantreno (WINDAUS pensó en un metil-propil-fenantreno o reteno). He aquí la fórmula según los datos más recientes, que se separan un poco de las aserciones anteriores :



La fórmula probable de la colesterina contiene pues, tres anillos que forman un compuesto del tipo del fenantreno, y además el anillo que lleva el grupo alcohólico, una cadena lateral isooctílica y un doble enlace. El hidrocarburo complejo constituído por los cuatro anillos hidroaromáticos y la cadena lateral se llama *colestano* ; la colesterina sería su alcohol.

En la *lanolina* o grasa de la lana de oveja hay, además de la verdadera colesterina, la *isocolesterina* (que no da la reacción de SALKOWSKI). Se conoce también la *coprosterina* ($C_{27}H_{48}O$) de las heces (hombre y animales) que parece ser un producto de reducción de la colesterina de la bilis. En los excrementos de caballo se encuentra la *hipocoprosterina* más reducida aún ($C_{27}H_{54}O$), derivada quizás de las esterinas vegetales. En las esponjas se encuentra la *espongosterina* ($C_{27}H_{48}O$), también más hidrogenada que la colesterina.

Oxidando la colesterina pasa a *oxicolesterina* ($C_{27}H_{45}O$), menos hidrogenada por lo tanto que la colesterina. Se encuentran productos de oxidación de la misma en la sangre y en los tejidos ; son también productos de oxidación de la colesterina las substancias de acción cardiotóxica (digitálica) encontradas en la piel del sapo y otras llamadas también *sapotoxinas* animales. La misma *saponina* del reino vegetal parece contener núcleos complejos del tipo colesterínico (unidos con hidratos de carbono formando glucósidos).

Citemos también los llamados *lipocromos*, que son pigmentos que acompañan a la grasa y lipoides, como los que comunican el color amarillo característico a la yema de huevo *(luteína)*, a las células luteínicas del cuerpo amarillo del ovario, etc. Parece que son de origen vegetal (en los vegetales se encuentran varios representantes de este grupo de pigmentos) pero de todos modos están muy difundidos por los tejidos animales. También son hidrocarburos complejos con la molécula construída por anillos hidroaromáticos muy parecidos al *colestano*, que sería el hidrocarburo del cual la colesterina representaría el alcohol.

Entre los lipocromos tenemos el *carateno* o *carotina*, que tiene según WILLSTAETTER la fórmula $C_{40}H_{56}$, cristaliza en laminillas, está muy difundido por el reino vegetal, y en el reino animal colorea de amarillo los cuerpos lúteos ováricos. La *xantofila* de las plantas es un producto de oxidación del precedente ($C_{40}H_{56}O_2$) y se encuentra, como la luteína, en la yema del huevo, colorea el pico y las garras de los pájaros, etc. Se ha supuesto que estos hidrocarburos servían para facilitar la combustión de las grasas que acompañan.

Finalmente debemos anticipar aquí que en la bilis (de los vertebrados) se encuentran soldados con la taurina o con la glicocola y hasta con ácido sulfúrico los llamados *ácidos biliares*, cuya constitución, aclarada por los trabajos clásicos de WINDAUS y de WIELAND se aproxima a la de la colesterina, con la cual podrían tener relaciones de origen. Estos son el *ácido colálico* o *cólico* ($C_{24}H_{40}O_5$), el más importante, el ácido *desoxicólico* ($C_{24}H_{40}O_4$) y el *ácido litocólico* ($C_{24}H_{40}O_3$). Por reducción posterior de estos ácidos se puede pasar al *ácido colánico* ($C_{24}H_{40}O_2$), que no es otra cosa que el ácido (con un solo grupo carboxílico) correspondiente al hidrocarburo $C_{24}H_{40}$ o *colano*, constituído, como el hidrocarburo fundamental de la colesterina o colestano, por cuatro anillos hidroaromáticos y una cadena lateral. En los ácidos biliares naturales (ácido cólico, desoxicólico y litocólico unidos a la taurina, glicocola, etc. : ácidos *glicocólico*, *taurocólico*, etc.) se encuentran, además del carboxilo, *tres*, *dos* y *un* grupo cetónico, respectivamente (1).

(1) En la bilis se encuentra también *ácido coleico*, y por las uniones corrientes con la glicocola y la taurina ácidos *glicocoleico* y *taurocoleico*. El ácido coleico parece ser la combinación de un ácido graso superior (palmítico o esteárico) con ácido desoxicólico : una molécula del primero por cada ocho del segundo.

Hemos citado aquí estos ácidos biliares por su analogía química con la colesterina, de la cual son además el disolvente fisiológico, y porque por otra parte ellos y las esterinas tienen similitudes químicas con ciertos venenos animales (de sapo, como la *bufotalina* de FAUST, obtenida por WIELAND en estado cristalino ; de las abejas y serpientes) y vegetales (saponina). Nótense estas relaciones bioquímicas : las saponinas (como las sales biliares es decir, las sales sódicas de los ácidos biliares : glicocólico y taurocólico) son fuertemente hemolíticas. En cambio, la colesterina inhibe la hemolisis de la saponina, así como muchas otras acciones hemolíticas y especialmente las producidas por varios lipoides y por los venenos animales. Véase la parte correspondiente a las reacciones inmunitarias (Parte II).

Fosfátidos. — Son los lipoides más típicos ; su composición los acerca por un lado a las grasas (ya que contienen ácidos grasos) y por otro los aleja de ellas (por existir en su molécula bases nitrogenadas y ácido fosfórico). Son los lipoides dotados de más afinidad para el agua, en la cual se hinchan como los coloides hidrófilos ; esta afinidad por el agua es debida a su riqueza en bases y en ácido fosfórico soluble. Todos son extraibles por el alcohol a 85 %, es decir, que contenga algo de agua, mientras que el alcohol absoluto no los extrae todos.

Se derivan de una combinación del tipo de los ésteres *(ácido glicerofosfórico)* de la glicerina con ácido fosfórico (H_3PO_4 o también $PO\langle^{OH}_{OH}_{OH}$), el cual por otra parte está unido con una base orgánica nitrogenada ; con la misma molécula de glicerina están también combinados otros radicales de ácidos grasos. He aquí el esquema de la composición de una lecitina, un fosfátido típico :

CH_2 — O —— Rad. de ácido graso
|
CH — O —— Rad. de ácido graso
|
CH_2 — O —— $PO\langle^{OH}_{O}$ — Base nitrogenada.

Los diversos fosfátidos se distinguen entre sí por la naturaleza de los ácidos grasos que contienen : todos poseen por lo menos uno no saturado y muchos contienen también ácidos fuertemente no saturados (ácido linolénico). La presencia de ácidos grasos no saturados explica el notable poder de autooxidación propio de estas combinaciones, carácter de gran importancia biológica, dada su enorme difusión en los protoplasmas. En realidad puede decirse que probablemente no existen células sin fosfátidos. La yema de huevo es particularmente rica en ellos, y además abundan en el hígado, el miocardio, la porción cortical de las glándulas suprarrenales y de un modo especial en el sistema nervioso (mielina).

También se diferencian unos fosfátidos de otros por la naturaleza de la base : ésta puede ser la colina, la colamina u otra base menos conocida. Hablaremos de estas bases orgánicas cuando tratemos de las *aminas biógenas* o *proteinógenas* ; citemos por ahora la fórmula de la *colina*, que es el hidrato de oxietiltrimetilamonio :

$$(OH)C_2H_4 - N\langle^{CH_3}_{CH_3}_{CH_3} \quad (OH)$$

y la de la *colamina* que es el alcohol etílico aminosustituido :

$$CH_2 \cdot NH_2$$
$$|$$
$$CH_2 \cdot OH.$$

En la primera, el hidroxilo que reacciona con el complejo glicerofosfórico sería el del grupo etílico (a la izquierda), pero como parece extraño que el OH alcohólico del grupo etílico de la colina, que es muy poco activo, se combine con el ácido fosfórico quedando libre el OH básico del amonio, se admite por muchos una salificación o neutralización *interna* del OH del amonio con otra valencia ácida del ácido fosfórico.

La fórmula de la lecitina resultaría así :

$CH_2 \cdot O - R$
|
$CH \cdot O - R$
|
$CH_2 \cdot O - PO - O \cdot C_2H_4 \cdot N(CH_3)_3$
|
O———————|

Otros admiten una combinación con sales minerales, por ejemplo NaCl, siempre retenido como impureza.

Existen además fosfátidos complejos, en cuya molécula no se encuentra un solo átomo de N y uno de P, sino dos y quizás más, tanto del uno como del otro.

Pueden admitirse los siguientes grupos de fosfátidos :

1.° *Monoaminomonofosfátidos*, como la lecitina y la cefalina : N : P = 1 : 1.

2.° *Diaminomonofosfátidos*, como la esfingomielina : N : P = 2 : 1.

3.° *Monoaminodifosfátidos*, como la cruorina : N : P = 1 : 2.

Cuanto más progresa el estudio químico de estos compuestos, muy *lábiles* y bastante complejos, más nos persuadimos de su multiplicidad y de su *especificidad* en las diversas células. Considerando los más sencillos, los monoaminomonofosfátidos, encontramos ya una notable

variedad de compuestos. En general, se ha convenido en llamar *lecitinas* a los que tienen como base orgánica la colina, y *cefalinas* los que en lugar de ella contienen colamina ; la presencia de las primeras es característica en la yema de huevo, y la de las segundas en el cerebro. Pero la misma lecitina está muy lejos de ser una especie química bien definida : se encuentran lecitinas muy diversas en los distintos tejidos, con ácido palmítico, esteárico, oleico y otros ácidos (no saturados). Una de ellas, pura, con dos radicales esteáricos se prepara por síntesis (distearilecitina). Las lecitinas que por lo regular se aislan de los órganos son generalmente mezclas de cuerpos diversos con la estructura general señalada en el esquema precedente ; además están impurificadas por otros lipoides y frecuentemente contienen ácidos grasos libres, por lo cual se descomponen con facilidad en contacto del aire. En los trabajos de LEVENE y sus colaboradores (1) se hallan los análisis de lecitinas de varias procedencias. *Las lecitinas son insolubles en la acetona fría :* esto sirve para aislarlas de los otros lipoides con los cuales comparten la solubilidad en los otros disolventes de las grasas. Precipitan con el cloruro de cadmio. Son verdaderos coloides que forman en el agua, como *electrólitos anfóteros*, iones coloidales hidratables (como las proteínas) ; se comportan como verdaderos coloides hidrófilos, al contrario de la colesterina que se comporta como los coloides hidrófobos. Originan fácilmente *compuestos de adsorción* con las proteínas, con otros lipoides y con los hidratos de carbono, y esto explica que la extracción completa de las lecitinas por el éter presente a menudo dificultades ; en efecto, la unión con las proteínas, aunque sea lábil, impide que todas las lecitinas se disuelvan en el éter, pero se disuelven en éste si primero se han coagulado las proteínas rompiendo así su unión físico-química con éstas. Las *lecitalbúminas* tantas veces descritas no son probablemente compuestos químicos en proporciones definidas, sino compuestos de adsorción. La lecitina posee actividad óptica.

En cuanto a los otros fosfátidos, poco diremos sobre ellos : la *esfingomielina* (cerebro, hematíes) es un diaminomonofosfátido que contiene como base, además de la colina, la *esfingosina*, un amino-alcohol de la fórmula $C_{17}H_{31}(OH)_2 \cdot NH_2$ de cadena normal, no ramificada, de átomos de C, y como ácido graso el ácido *lignocerínico* $C_{23}H_{47}COOH$. No parece cierto que el ácido fosfórico se encuentre en ella en forma de ácido glicerofosfórico.

La *cruorina* ha sido extraída del corazón del buey ; es insoluble en frío en el alcohol (mientras que las lecitinas se disuelven). Es un monoaminodifosfátido ; contiene ácidos muy poco saturados y una base desconocida. Las *mielinas* del sistema nervioso, poco solubles en éter, están mal definidas químicamente : son quizás mezclas o combinaciones lábiles de varios lipoides.

(1) *Journ. of. biol. Chem.*, vol. XLII-XLVI.

No son substancias puras : el *carbaubon* (del riñón) considerado como un triaminomonofosfátido ; la *yecorina* (hígado, sangre, etc.), que es un compuesto de adsorción de fosfátidos con hidratos de carbono (llamados glicofosfátidos o glicofosfolipinas según MATHEWS), y el *protagon*, capaz de cristalizar, extraíble con alcohol caliente de la substancia blanca del cerebro, consecuencia quizás de mezclas o combinaciones moleculares de fosfátidos (espingomielina) y cerebrósidos (véase éstos).

Cerebrósidos. — Se trata de substancias encontradas principalmente en el tejido nervioso, pero también en otros órganos. Contienen N, pero no P. Resultan, como se demuestra al descomponerlas por hidrólisis de la combinación de ácidos grasos, bases nitrogenadas y un hidrato de carbono, que generalmente es la galactosa. Son pues una especie de glucósidos es decir, combinaciones etéreas de un azúcar con otros cuerpos de carácter alcohólico : frecuentemente la galactosa está unida en los cerebrósidos con la *esfingosina*, un alcohol que ya habíamos encontrado como base en un fosfátido : la esfingomielina. De aquí que estos lipoides también se llamen *esfingogalactósidos*. El ácido graso unido con la base y con la galactosa es frecuentemente el *cerebrósico* o *frenosínico*, un α-oxiácido con cadena ramificada de 25 átomos de C, transformable por oxidación en *ácido lignoglicerínico*, que ha sido encontrado también en la esfingomielina a la cual los cerebrósidos se parecen, distinguiéndose de ella por la carencia de P.

Se han descrito también otros varios cuerpos con los nombres de cerebrina, cerebrona, querasina, frenosina, etc. que quizás no son más que mezclas en diversas proporciones de dos antípodas ópticos de un solo cerebrósido : la *cerebrina*. En el llamado *protagon* (véase anteriormente) se encuentran cerebrósidos formando compuestos de adsorción con fosfátidos.

Sulfátidos. — Son las *sulfolipinas de* MATHEWS, es decir, lipoides complejos que, por descomposición hidrolítica, dan ácido sulfúrico y ácidos grasos. Se encuentran en el sistema nervioso, junto con el protagon.

El estudio de los lipoides se hace principalmente por extracción fraccionada mediante varios disolventes sucesivamente empleados : recordemos la serie de FRAENKEL, que permite una diferenciación aproximada de los varios lipoides y que BUSCAINO ha aplicado a la técnica histológica (1).

(1) *Arch. ital. de Biol.*, vol. LXI, pág. 1.

CAPÍTULO VII

Proteínas y sus derivados

a) Definición, composición centesimal, constitución. Aminoácidos. Especificidad de las proteínas.

Las *substancias proteicas, proteínas* o *albuminoides* son cuerpos de peso molecular elevadísimo, que contienen siempre nitrógeno (además de carbono, hidrógeno y oxígeno) y frecuentemente también azufre. Están constituídos principalmente por complejos de aminoácidos (enlazados entre sí), y sus disoluciones presentan propiedades coloidales acentuadas.

Las proteínas forman cerca de la mitad del material orgánico del cuerpo humano y representan precisamente el 16 % de todo el peso corpóreo. Son probablemente, junto con los lipoides, el substrato fundamental de la vida. Por contener N, además de C, O, H, se denominaban en otro tiempo cuerpos *cuaternarios*, en contraposición con los hidratos de carbono y las grasas que se llamaban substancias *ternarias* : pero basta leer lo referente a los lipoides y aun a las mismas proteínas para comprender la falta de exactitud de esta antigua denominación. En efecto : además de los cuatro elementos antedichos, casi todos los albuminoides contienen azufre, y algunos también fósforo o yodo.

El análisis directo da la siguiente composición centesimal aproximada : C : 50-55 % ; H : 6,6-7,3 % ; N : 15-19 % (generalmente para calcular la cantidad de proteína, partiendo de N albuminoide se multiplica éste por 6,25) ; O : 21-23 % ; S : 0,3-2,2 %.

Aun en las proteínas más puras se encuentran *cenizas* (sales minerales) : es probable que parte de las sales estén en cierto modo unidas al complejo molecular proteico.

Estas cifras dicen poco : para profundizar el estudio de la composición de la molécula proteica es necesario desintegrarla por varios medios (hidrólisis en caliente con álcalis, empleada por Schutzenberger ; también en caliente con ácidos fuertes como el ácido sulfúrico al 10 %, clorhídrico al 30 %, empleados por E. Fischer, Drechsel, Kossel, Abderhalden, con fermentos, etc.), los cuales proporcionan cierto número de componentes iguales, que hacen pensar que preexisten en la molécula y que no son productos artificiales que aparecen durante su disgregación.

Se ha conseguido descomponer *todas* las proteínas en una veintena de *aminoácidos* que representan los principales bloques constructivos del enorme edificio molecular proteico. Sin embargo, actualmente sólo puede decirse con seguridad que un 70 % de cada albuminoide está compuesto por aminoácidos ; el 30 % restante debe componerse o de aminoácidos desconocidos o de otros materiales todavía sin identificar y no bien separables.

Los *aminoácidos* o *ácidos aminados*, son ácidos orgánicos de la serie acíclica o de la cíclica, en los cuales uno o más átomos de C de la cadena tienen un grupo NH_2. En las proteínas se encuentran aminoácidos que tienen por lo menos un grupo NH_2 unido al átomo de C más próximo al carboxilo y llamado α-carbono : todos son, pues, α-aminoácidos construídos según el esquema siguiente :

$$\begin{array}{l} R - CH \cdot NH_2 \\ \quad\quad | \\ \quad\quad COOH \end{array}$$

en donde R representa una cadena de átomos de C, que puede ser larga o corta, ramificada o no, abierta o cerrada.

No *todos* los aminoácidos están presentes en *todas* las proteínas : las hay que están constituídas por relativamente pocos aminoácidos ; hay otras, más completas, por decirlo así, en las cuales se encuentran todos los aminoácidos conocidos como componentes de los albuminoides. Lo cierto es que muchas veces algunos aminoácidos están repetidos varias veces en una molécula proteica, porque ésta tiene un peso molecular enorme y por lo tanto no puede estar construída únicamente por 15 ó 18 aminoácidos diversos presentes una sola vez. El peso molecular de las proteínas es difícil de medir directamente por el descenso del punto de congelación de sus disoluciones o con el osmómetro, porque es difícil eliminar todos los electrólitos de las disoluciones de albuminoides y porque después de haberlas purificado tanto como sea posible, se obtienen presiones osmóticas mínimas. Se ha calculado a partir de la proporción de S o de P (o Fe en el caso de la hemoglobina) admitiendo que en cada molécula debe encontrarse *por lo menos* un átomo de estos elementos bien dosificables. Así se han hallado valores comprendidos entre 6,000 y 16,000 aproximadamente (alrededor de 6000 para la ovoalbúmina y de 16 000 para la hemoglobina).

En este colosal edificio atómico los aminoácidos están unidos mediante sus grupos carboxílicos y amínicos, enlazándose precisamente el grupo carboxílico de un aminoácido con el grupo amínico de otro, con eliminación de una molécula de agua. He aquí el esquema de esta reacción entre los aminoácidos :

$$R{-}\underset{\underset{COOH}{|}}{CH}{-}NH_2 + R'{-}\underset{\underset{COOH}{|}}{CH}{-}NH_2 = R{-}\underset{\underset{COOH}{|}}{CH}{-}NHCO{-}\underset{\underset{NH_2}{|}}{CH}{-}R' + H_2O$$

En la hidrólisis (con los ácidos, bases y fermentos) esta unión especial representada por el grupo NHCO, entre la cadena de carbono de los aminoácidos, se rompe, con readquisición de una molécula de agua, reapareciendo así los aminoácidos simples, uno junto al otro, pero libres.

Podemos representar esquemáticamente una cadena de aminoácidos combinados en la molécula proteica, del siguiente modo:

$$R - \underset{\underset{COOH}{|}}{CH} - NHCO - \underset{\underset{NHCO - CH - R''}{|}}{CH} - R'$$

$$NHCO - \underset{\underset{NHCO - CH - R'''}{|}}{CH} - R''$$

$$NHCO - \underset{\underset{NH_2}{|}}{CH} - R''''$$

o sea, tenemos como una serie de uniones NHCO intercaladas entre varias cadenas más o menos largas de C, variadamente construídas y mantenidas como en un haz:

$$NHCO - \underset{|}{CH} - NHCO - \underset{|}{CH} - NHCO - \underset{|}{CH} -$$

En la cadena simple *típica* quedan libres los dos grupos carboxílico y amínico *de los extremos*, de lo cual resulta una valencia ácida y otra básica, tanto en el complejo entero como en un aminoácido considerado aisladamente. A esto se debe que tanto los aminoácidos, como las cadenas por ellos formadas tienen caracteres de electrólito *anfótero*, es decir, que poseen propiedades ácidas y básicas al mismo tiempo. Las proteínas tienen también este carácter, derivado de su composición (véase inmediatamente).

Con la oxidación se queman las cadenas de átomos de C hasta reducirse a simples grupos metilénicos intercalados entre las *uniones carboamínicas* NHCO (o *enlaces de los péptidos*):

$$NHCO - CH_2 - NHCO - CH_2 - NHCO;$$

y por ulterior oxidación:

$$NHCO - CO - NHCO - CO - NHCO;$$

que, al romperse, da:

ácido oxálico $\underset{\underset{COOH}{|}}{COOH}$ oxamida $\underset{\underset{CO \cdot NH_2}{|}}{CO \cdot NH_2}$

y ácido oxamínico $\underset{\underset{COOH}{|}}{CONH_2}$

los cuales se encuentran efectivamente entre los productos de descomposición de la molécula proteica, cuando se opera por oxidación (en vez de por hidrólisis).

Gracias principalmente a E. Fischer se ha conseguido combinar aminoácidos de la manera dicha, construyendo lo que se ha llamado *péptidos* o *polipéptidos sintéticos*. El más sencillo de éstos es la *glicilglicina* o combinación de dos moléculas de glicocola, el aminoácido más bajo (ácido aminoacético: $NH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH$):

$$\underset{\underset{CH_2 - CO - NH - CH_2 - COOH.}{|}}{NH_2}$$

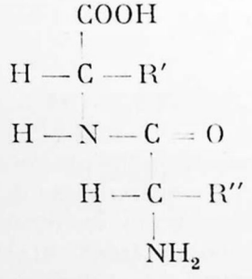
Se han construído también polipéptidos de 18 y de 19 aminoácidos sencillos, con propiedades parecidas a las de los albuminoides naturales *aunque no con todas ellas*. Según las ideas de Hofmeister éstos resultan probablemente de polipéptidos característicos muy complejos, agregados después *físicamente* en individualidades más elevadas que son las verdaderas proteínas. Expondremos más adelante las ideas formuladas recientemente por algunos investigadores.

Es cierto que en la molécula proteica hay otros componentes además de los aminoácidos, unos conocidos (amidas, grupos de hidratos de carbono, etc.), otros, como se ha dicho, todavía desconocidos. También es cierto que la unión carboamínica $O = \underset{|}{C} - \underset{|}{N} - H$ o enlace de los péptidos no es la única; deben existir otras formas de concatenación entre los varios componentes, aminoácidos y no aminoácidos, porque veremos que ciertas enzimas (pepsina) que no atacan aquella unión, y por esto no hidrolizan los polipéptidos artificiales que sólo poseen dicho enlace, pueden, sin embargo, simplificar los albuminoides naturales, por lo menos hasta un cierto grado.

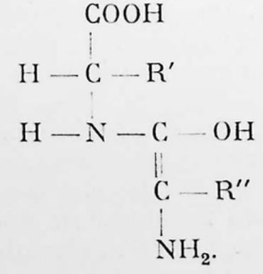
Los aminoácidos presentes en las proteínas son todos ópticamente activos a excepción de la glicocola: el α-C o átomo de carbono α es asimétrico. Cada aminoácido está presente en los albuminoides naturales en forma de un determinado antípoda óptico. Las disoluciones de proteínas tienen también poder rotatorio. Cuando se hidroliza un

albuminoide, por cualquier método, la mezcla de aminoácidos resultante tiene un poder rotatorio *diverso* (y a veces superior) del de la proteína original : así, pues, se puede seguir con el polarímetro el proceso de escisión hidrolítica (por ejemplo, por la acción de las enzimas) de un albuminoide y aun de un polipéptido natural o artificial.

Debe recordarse un hecho interesante, estudiado por DAKIN y DUDLEY (1) y por KOSSEL (2) : las proteínas, tratadas con álcalis diluídos, son como se dice racemizadas : esto es, que por hidrólisis con el mismo álcali o por hidrólisis sucesiva con ácidos, dan una mezcla de aminoácidos que es ópticamente inactiva, porque cada aminoácido está representado por cantidades iguales de los dos antípodas ópticos, es decir, aparece en forma racémica (sin embargo, el fenómeno no es absoluto ni cuantitativo). Se ve, pues, que los álcalis han actuado sobre las proteínas haciendo aparecer el antípoda óptico, antagónico del que primitivamente existía, es decir, que con parte del isómero de una rotación dada han hecho desarrollar el otro (estéreo) isómero de actividad opuesta. DAKIN explica así el fenómeno : el enlace carboamínico en las proteínas está, en gran parte, así dispuesto :



pero se encuentra también, por una especie de transposición atómica intramolecular, en la forma siguiente :



La primera, que contiene un grupo CO, se llama forma *cetónica* o *quetónica*, y la segunda, *enólica* (con un grupo COH, alcohólico ter-

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XIII y XV.
(2) *Zeitschr. f. phys. Chem.*, vol. LXXII, LXXVIII, LXXXIV.

ciario). En la segunda forma se puede observar que un átomo de C (el más bajo de la fórmula) que era *asimétrico* en la primera porque estaba unido a cuatro grupos diversos, se ha vuelto *simétrico*. Las dos formas, cetónica y enólica, quizás coexisten y están como en equilibrio en la molécula, pero los álcalis alteran el equilibrio en favor de la forma enólica que bajo su acción resulta la predominante. Puede decirse que bajo la influencia de los álcalis los aminoácidos que tienen su carboxilo combinado lo están con su unión en forma enólica y con el α-carbono simétrico.

Cuando, por ejemplo, una vez acabada la hidrólisis en medio alcalino y recobrada la reacción neutra o ácida, el α-carbono toma de nuevo la forma asimétrica, tal como la tiene siempre en los aminoácidos libres, aparecen naturalmente partes iguales de los dos antípodas ópticos, porque nada queda allí que determine la formación exclusiva de un antípoda en vez del otro.

He aquí, pues, que mientras en las proteínas originales, fabricadas por la actividad asimétrica de la vida, se produce un solo antípoda de cada aminoácido y éste aparece en esta misma forma por la hidrólisis con ácidos, enzimas, etc. ; cuando ha precedido la acción alcalina simetrizadora para el α-carbono (sólo para el de los aminoácidos combinados) al cesar ésta quedan partes iguales de las formas asimétricas opuestas, como pasa casi siempre que de un compuesto inactivo se forman compuestos ópticamente activos. Estos hechos no son de un interés puramente teórico sino que tienen gran valor para el bioquímico, pues se ha visto que los albuminoides racemizados (tratados con álcalis, pero siempre íntegros) pierden gran parte de su poder antigénico (por lo menos TEN BROEK (1) ha encontrado que ya no producen anafilaxia) y son menos atacables por las enzimas. Vemos, pues, que los fenómenos inmunitarios y la atacabilidad por parte de las enzimas están en relación con la configuración molecular y podemos explicarnos porque el tratamiento con substancias fuertemente alcalinas compromete casi siempre el poder antigénico de las vacunas, que contienen proteínas bacterianas.

Los aminoácidos tienen propiedades comunes interesantes para el biólogo, ya porque son utilizables en los métodos analíticos, ya porque explican importantes fenómenos biológicos. Un carácter fundamental es su aptitud para reaccionar como ácidos, en virtud de su grupo carboxílico que disocia H-iones, o como bases por efecto del grupo amínico que permite un comportamiento igual al del amoníaco sustituído. A esto se debe que se formen sales de los aminoácidos con las bases, en las cuales el aminoácido obra como ácido :



(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XVII.

y sales de los aminoácidos con ácidos, en las cuales el aminoácido funciona como base :

$$\begin{array}{l} R-CH\cdot NH_2 \\ \quad\;\; | \\ \quad\;\; COOH \end{array} + HCl = \begin{array}{l} R-CH\cdot NH_3Cl \\ \quad\;\; | \\ \quad\;\; COOH. \end{array} \qquad (1)$$

Ambos tipos de sal son disociables cuando se disuelven en agua. La primera sal origina un sodio-catión y un anión :

$$\left(\begin{array}{l} R-CH\cdot NH_2 \\ \quad\;\; | \\ \quad\;\; COOH \end{array}\right);$$

la segunda sal da un cloroanión y un catión :

$$\left(\begin{array}{l} R-CH\cdot NH_3 \\ \quad\;\; | \\ \quad\;\; COOH \end{array}\right).$$

Como en el primer caso se trata de una sal de ácido débil con una base fuerte y en el segundo de una sal de ácido fuerte con una base débil, se obtiene en ambos una fuerte disociación hidrolítica, y por lo tanto, según el principio expuesto en las páginas 16-17, las soluciones de las sales del primer tipo tienen reacción *alcalina* y las del segundo tipo son *ácidas*.

Los aminoácidos funcionan, pues, como aniones o cationes según que se encuentren en medio alcalino o ácido : esta circunstancia explica la propiedad análoga de las proteínas, que son también electrólitos anfóteros o anfolitos, porque disocian tantos $H^{\cdot}$ como OH'.

Con las sales de metales pesados los aminoácidos forman sales dobles, frecuentemente cristalizables, del siguiente tipo (con cloruro de cobre) :

$$\begin{array}{l} R-CH\cdot NH_2\cdot CuCl_2 \\ \quad\;\; | \\ \quad\;\; COOH \end{array}$$

(1) Si queremos formarnos una idea clara de por qué el aminoácido es una base, podemos considerarlo derivado del *hidrato de amonio* $(NH_4)OH$, que corresponde al amoníaco en solución, en el cual el NH_4 obra como un metal alcalino. El aminoácido es, por consiguiente, hidrato de amonio en el cual un átomo de H del amonio es sustituído por el grupo $\begin{array}{l} R-CH- \\ \quad\;\; | \\ \quad\;\; COOH \end{array}$ y su fórmula se puede representar del siguiente modo : $\begin{array}{l} R-CH-NH_3\cdot OH \\ \quad\;\; | \\ \quad\;\; COOH \end{array}$

En disolución acuosa este complejo disociará OH-iones y se comprende que reaccionará con los ácidos según la igualdad :

$$\begin{array}{l} R-CH\cdot NH_3OH \\ \quad\;\; | \\ \quad\;\; COOH \end{array} + HCl = \begin{array}{l} R-CH\cdot NH_3Cl + H_2O \\ \quad\;\; | \\ \quad\;\; COOH \end{array}$$

Esta propiedad es, pues, inherente a la presencia del grupo NH_2. El grupo amínico se combina también con el formaldehido (y otros aldehidos) eliminándose agua, según la reacción siguiente :

$$\begin{array}{l} R-CH\cdot NH_2 \\ \quad\;\; | \\ \quad\;\; COOH \end{array} + H\cdot COH = \begin{array}{l} R-CH-N=CH_2 + H_2O \\ \quad\;\; | \\ \quad\;\; COOH \end{array}$$

Para cada grupo amínico combinado con el aldehido se forma, pues, un grupo metilénico $= CH_2$, por lo cual desaparece la valencia básica del aminoácido.

En esto se funda el método de SCHIFF-SÖRENSEN para la dosificación de los aminoácidos libres : si a una mezcla de aminoácidos perfectamente neutralizada se añade formol (solución de formaldehido), aparece la reacción ácida debida a los carboxilos que ya no están equilibrados por los grupos amínicos combinados con el formaldehido, y el grado de acidez (medido por valoración con hidrato sódico, usando la fenolftaleína como indicador) da la cantidad de NH_2, grupo que ha reaccionado con el aldehido, o sea la cantidad de aminoácidos. Las proteínas íntegras, no hidrolizadas contienen también pocos grupos NH_2-*libres* y determinables por el formol ; sólo poseen los situados en los extremos de las cadenas de ácidos aminados (no unidos al carboxilo de otro ácido) o los del segundo grupo amínico de los diaminoácidos (véase más adelante). Se comprende que por la hidrólisis aumenta el número de grupos amínicos evaluables por el método de SCHIFF-SÖRENSEN, porque siempre se rompen nuevas uniones carboamínicas ; por lo tanto la valoración por el formol de los grupos amínicos libres (que reaccionan con el formaldehido) nos da una idea de la manera como alcanza la desintegración proteica.

También los aminoácidos monosustituídos (por ejemplo : la metilglicocola = sarcosina) reaccionan con el formol, según A. CLEMENTI (1), del siguiente modo :

$$\begin{array}{l} R-N\begin{cases} R \\ H \end{cases} \\ \\ R-N\begin{cases} H \\ R \end{cases} \end{array} + HCHO = \begin{array}{l} R-N\begin{cases} R \\ CH_2 \end{cases} \\ R-N\begin{cases} R \end{cases} \end{array} + H_2O$$

o sea, que cada dos moléculas del aminoácido monosustituído se combinan con una de formaldehido.

El grupo amínico está firmemente unido a la molécula del aminoácido y es difícilmente separable por vía hidrolítica (esto es, reemplazado por un grupo OH). Cuando se tratan proteínas por los ácidos, se

(1) *Rend. Acc. Lincei*, vol. XXV, s. 5.ª, 1.° sem., 21 febrero 1915.

desprende un poco de N en forma de amoníaco, pero este N no proviene del grupo amínico de los ácidos aminados, sino de otros grupos nitrogenados de la molécula albuminoidea y precisamente del grupo *amídico* (es decir, de grupos en los cuales el N está directamente unido al carboxilo, como en las *amidas*: $R-CO\cdot NH_2$; véase más adelante). Por el contrario, el nitrógeno de los grupos aminados se separa fácilmente *por oxidación*, que puede lograrse con agua oxigenada o con permanganato potásico:

$$\begin{matrix} R-CH\cdot NH_2 \\ | \\ COOH \end{matrix} + O \rightleftharpoons \begin{matrix} R-CO \\ | \\ COOH \end{matrix} + NH_3.$$

La reacción es *reversible* y tiene una enorme importancia biológica, pues demuestra como por medio de agentes oxidantes el aminoácido puede ser *desaminado (desaminación por oxidación*, la más corriente en el organismo) y transformado en α-cetoácido y, por otra parte, que el α-cetoácido en presencia de amoníaco y mediante agentes reductores, puede dar origen a un aminoácido. Ahora bien: se forman cetoácidos (tales como el ácido pirúvico) en la disgregación de los azúcares, y también pueden derivarse de los ácidos grasos; he aquí una etapa importante de la síntesis de los aminoácidos y, por lo tanto, de las proteínas, partiendo de los hidratos de carbono o de las grasas y del amoníaco.

Cuando un albuminoide o una mezcla de aminoácidos se trata con ácido nitroso (HNO_2) la oxidación es más radical y se extiende al amoníaco procedente de la desaminación de los aminoácidos: el NH_3 con el HNO_2 forma dos moléculas de agua y nitrógeno libre. Esta es la base del método de Van Slyke para dosificar los ácidos aminados (o grupos NH_2 *libres* en la molécula de proteínas, polipéptidos, etc.): la cantidad de N que queda libre en forma gaseosa a partir de una mezcla de aminoácidos tratados con ácido nitroso, mide el número de grupos amínicos presentes en la mezcla.

Los aminoácidos, tratados por alcohol y HCl forman *ésteres:* los ésteres producidos en una mezcla de aminoácidos pueden ser separados unos de otros por *destilación fraccionada* a baja presión. Esta es la base del método de E. Fischer para el aislamiento y estudio consecutivo de los aminoácidos resultantes de la hidrólisis de las proteínas.

Hace poco hemos hablado de la *oxidación* de los aminoácidos y hemos visto que ésta se verifica sólo por medio de enérgicos medios oxidantes (permanganato, H_2O_2, etc.). Por el contrario, en contacto del aire los aminoácidos son perfectamente estables e inatacables por el oxigeno atmosférico. Sin embargo, datos recientes (debidos especialmente a Warburg, 1921) demuestran que, si los aminoácidos se disuelven en agua y luego la solución es agitada junto con carbón animal, son rápidamente oxidados por el oxígeno del aire hasta CO_2 y NH_3, igual como pasa en el organismo: los aminoácidos son efectivamente adsorbidos por la amplia superficie del carbón y esto los hace mucho más atacables por el oxígeno y en cierta manera los expone más a la acción de éste *(catálisis de adsorción)*, de la misma manera que la esponja de platino adsorbe el oxígeno e hidrógeno y acelera enormemente su combinación.

Veamos cuáles son los aminoácidos incluídos en la molécula proteica, y luego qué otros grupos atómicos existen en ella además de los aminoácidos.

Aminoácidos constituyentes de las proteínas. Los aminoácidos pueden clasificarse según que pertenezcan a la serie acíclica (grasa) o cíclica, esto es, según que tengan exclusivamente cadenas de átomos de carbono abiertas o cerradas.

Entre los aminoácidos de cadena abierta o aminoácidos de la serie grasa algunos tienen un solo grupo NH_2 y un solo carboxilo o grupo COOH; otros tienen dos grupos NH_2 y algunos poseen también dos carboxilos. Así se distinguen *monoaminoácidos, monobásicos, diaminoácidos monobásicos* y *monoaminoácidos bibásicos.*

Entre los monoaminoácidos monobásicos tenemos:

La *glicocola* o ácido monoaminoacético:

$$\begin{matrix} CH_2\cdot NH_2 \\ | \\ COOH \end{matrix}$$

La *d-alanina* o ácido α-aminopropiónico:

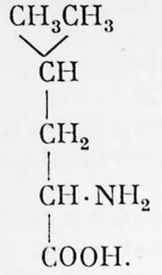
$$\begin{matrix} CH_3 \\ | \\ CH\cdot NH_2 \\ | \\ COOH \end{matrix}$$

La *d-valina* o ácido α-aminoisovaleriánico:

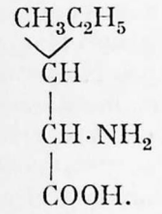
$$\begin{matrix} CH_3CH_3 \\ \diagdown\diagup \\ CH \\ | \\ CH\cdot NH_2 \\ | \\ COOH. \end{matrix}$$

Según Abderhalden, quizás también existe en las proteínas el ácido α-aminovaleriánico con cadena normal no ramificada: $CH_3-CH_2-CH_2-CH\cdot NH_2-COOH$: sería la nor-valina.

La *l-leucina*, ácido aminocaproico o ácido α-aminoisobutilacético (casi insoluble, por lo tanto fácil de aislar) :



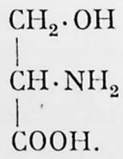
La *d-isoleucina* o ácido metiletilaminopropiónico :



Este últino, recientemente descubierto, es más soluble en el agua que la leucina.

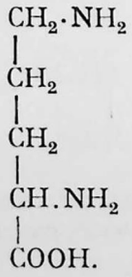
Por hidrólisis del tejido nervioso, ABDERHALDEN ha encontrado también una *nor-leucina* o ácido aminocaproico de cadena normal: $CH_3 — CH_2 — CH_2 — CH_2 — CH\cdot NH_2 — COOH$.

La *serina* o ácido α-amino-β-oxipropiónico (que es un oxiácido) :

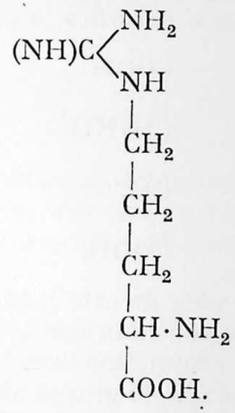


Entre los diaminoácidos tenemos :

La *ornitina* o ácido α-δ-diaminovaleriánico, que corresponde a un ácido valeriánico o ácido graso de 5 átomos de C (derivado del pentano), en el cual el átomo α y el átomo δ, esto es, el primero y el último, a partir del carboxilo, llevan un grupo amínico :



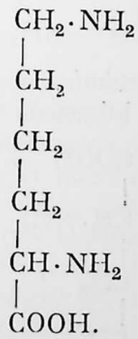
Nótese que en la hidrólisis de los albuminoides no aparece este diaminoácido, sino un compuesto suyo con una base orgánica importante, la *guanidina* $(NH)C\langle^{NH_2}_{NH_2}$ de la que volveremos a hablar porque parece que tiene una gran importancia fisiopatológica (veneno tetánico ; quizás la substancia conservadora fisiológica del tono muscular?). El compuesto de la ornitina con la guanidina se llama *d-arginina* y es un ácido guanidin-α-aminovaleriánico, que aparece siempre con claras propiedades básicas en la hidrólisis proteica :



Por ebullición prolongada con hidrato de barita o mediante la acción de una enzima contenida en los órganos (arginasa) la arginina adquiere una molécula de agua y se escinde en *urea* $CO\langle^{NH_6}_{NH_2}$ y *ornitina*.

El otro diaminoácido, presente en muchos albuminoides (falta, por ejemplo, en la gliadina del trigo) es la :

d-lisina o ácido α-ε-aminocaproico :



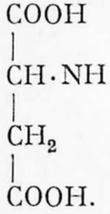
KOSSEL ha reunido, con el nombre de bases hexónicas, la arginina, la lisina y un tercer cuerpo que tiene otra constitución y que mencio-

naremos en la página 102, porque los tres poseen una alcalinidad discreta (en los diaminoácidos, que tienen dos grupos alcalinos y uno solo ácido, predominan las propiedades alcalinas) y contienen 6 átomos de carbono en su molécula. Estas tres bases precipitan cuando se trata por ácido fosfotúngstico la mezcla de aminoácidos resultante de la hidrólisis proteica.

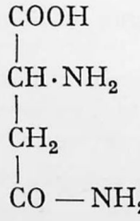
Podemos citar, además, el *ácido diaminotrioxidodecanoico* ($C_{12}H_{26}N_2O_5$), poco estudiado, que es el ácido de cadena más lárga de átomos de C.

Entre los ácidos bibásicos en los cuales, por la presencia de dos grupos carboxílicos y uno solo amínico, predominan naturalmente las propiedades ácidas, tenemos :

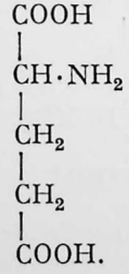
El *ácido l-asparragínico* o *aspártico*, o ácido aminosuccínico :



Citemos también la *amida* de este ácido (*amidas* son los cuerpos que resultan sustituyendo con radicales ácidos uno o más hidrógenos del amoníaco ; no deben confundirse con las aminas, que se derivan del amoníaco por introducción de grupos alcohólicos en su molécula) : esta amida se llama *asparragina*, es abundante en el reino vegetal y puede ser utilizada por las bacterias y por muchas de las existentes en la flora intestinal de los herbívoros para construir proteínas :

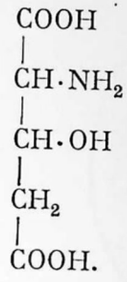


El *ácido d-glutamínico*, *glutámico* o α-aminoglutárico, que se deriva del ácido glutárico, ácido bibásico con 5 átomos de C.

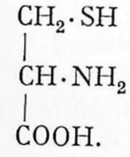


También se conoce la amida de éste, llamada *glutamina*, que parece estar contenida sin modificación en la molécula proteica y se encuentra en el metabolismo intermediario.

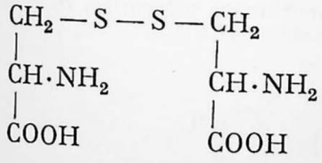
El *ácido oxiglutámico* o ácido β oxi-α-aminoglutárico, encontrado recientemente por DAKIN entre los productos de descomposición de la caseína :



Se encuentra también un aminoácido sulfurado, que podemos considerar del tipo de la serina, con SH en lugar de OH. Es, pues, un ácido α-amino-β-tiopropiónico, llamado *cisteína*, de fórmula :



La *cisteína* está combinada con sí misma para formar, mediante eliminación de hidrógeno, la *l-cistina* :



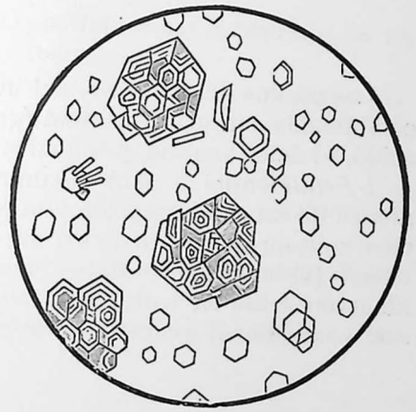


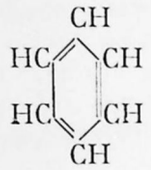
FIG. 3. Cristales de cistina

cuerpo insoluble en el agua, alcohol y ácido acético diluído, soluble en ácidos y álcalis fuertes, formando cristales característicos en forma de laminillas exagonales. En la hidrólisis de casi todas las proteínas se produce cistina, que debe, pues, preexistir en la molécula y representa la forma principal con que el azufre está incluído en la molécula albuminoidea. Las queratinas son muy ricas en este disulfuro orgánico y por lo tanto en S. Por hidrólisis ácida de muchas proteínas, y también hidrolizando la caseína mediante NaOH, MUELLER (1) ha aislado un nuevo aminoácido que contiene S, distinto de la cistina.

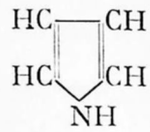
(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. LVI, 1923.

Entre los aminoácidos con cadena cerrada los hay con el núcleo del *benceno* (isocíclicos), otros con el núcleo del *indol* y uno con el núcleo del *imidazol*. Tenemos también derivados del anillo *pirrólico* que no son aminoácidos propiamente dichos, pero que podemos citarlos en este lugar.

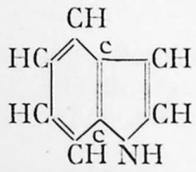
Representemos estos cuatro anillos fundamentales :



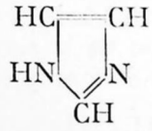
benceno



pirrol



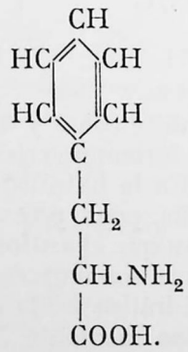
indol o benzopirrol



imidazol

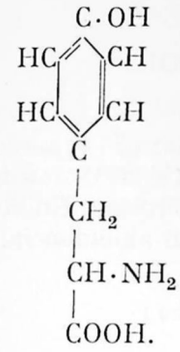
Los anillos del benceno, del indol y del imidazol los encontramos combinados con el C terminal (grupo metílico) de un mismo aminoácido, el ácido α-aminopropiónico o alanina y tenemos así :

l-Fenilalanina o ácido α-amino-β-fenilpropiónico, que con ácido nítrico da un color amarillo y es por esto la causa de la llamada reacción xantoproteica (nitración del anillo bencénico). Se deben a Ducceschi (1) los primeros datos precisos acerca de la cantidad de fenilanina contenida en varias substancias proteicas) albúmina de huevo, suero sanguíneo, queratina, etc.).



(1) *Beitr. z. chem. Physiol.*, vol. I, 1901.

l-Tirosina o ácido paraoxifenil-α-aminopropiónico, que es igual a la substancia precedente, con la única diferencia que en la que nos ocupa el anillo está oxidado, es decir, que lleva un grupo OH en posición *para* (opuesta) respecto a la cadena lateral :



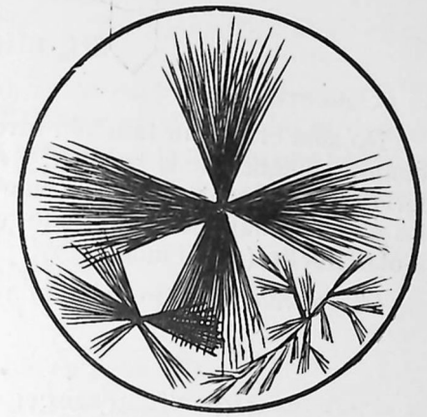


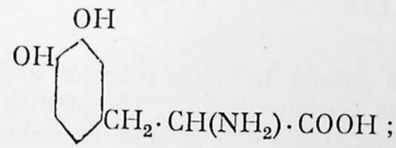
Fig. 4. Cristales de tirosina

Es casi insoluble en agua fría, de la cual se separa en forma de cristales aciculares en haces característicos. Con el reactivo de Millon (nitrato mercurioso disuelto en HNO_3 con un poco de nitrito) da un color rojo. Da también las siguientes reacciones :

Reacción de Piria : disolviendo tirosina en H_2SO_4 concentrado, calentando media hora al baño maría hirviente, neutralizando después y añadiendo un poco de cloruro férrico ($FeCl_3$), se obtiene un color violeta.

Reacción de Mörner : hirviéndola con H_2SO_4 y formaldehido, da color verde.

Según Bloch (1), en la molécula proteica debería quizás haber también una dioxifenilalanina u oxitirosina que actuaría de cromógeno en la piel y cuya fórmula abreviada, sin los CH del anillo, sería :

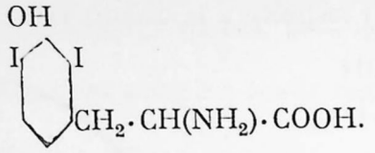


es decir, un núcleo difenólico, precisamente pirocatéquico, unido a la alanina. Pero es dudoso que tales grupos difenólicos existan ya preformados en la molécula albuminoidea (sin embargo, los encontramos en las bases proteinógenas, como la adrenalina).

Más bien parece cierto que en ciertas proteínas existen grupos fenólicos yodados : en la hidrólisis de la *gorgonina* o *espongina*, albumi-

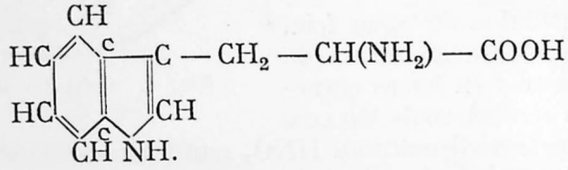
(1) *Arch. f. Dermat. u. Syph.*, vol. CXXIV, 1917.

noides yodados de los corales y esponjas, se separa una 3-5-*diyodotirosina* :



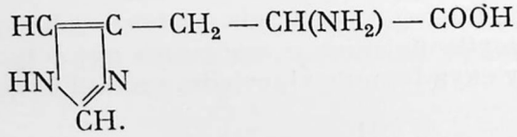
No sólo el I, sino también otro halógeno : el Br, se combina con el anillo fenólico de la tirosina, y en las proteínas de los metazoos inferiores se encuentra también una dibromotirosina. En el tiroides de los animales superiores, el yodo, presente en abundancia, está unido a otro núcleo (el del indol).

l-Triptófano o ácido indolaminopropiónico :



Con agua de bromo, en solución ligeramente ácida, da un color violeta. Es poco soluble en agua fría. Con dimetilaminobenzaldehido da también un color violeta.

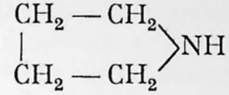
l-Histidina o ácido β-imidazol-α-aminopropiónico :



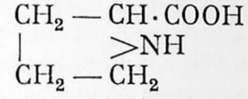
La histidina está dotada de fuerte reacción alcalina, debida a que su anillo contiene un grupo imínico (NH) además del amínico. Añadiendo ácido fosfotúngstico a una mezcla de aminoácidos que la contenga, precipita junto con los diaminoácidos, con los cuales Kossel la ha reunido bajo la denominación común de *bases hexónicas* (véase más arriba).

En las proteínas encontramos de una manera indudable el anillo pirrólico. En efecto, entre los productos de la hidrólisis proteica encontramos constantemente la *prolina* y muchas veces la *oxiprolina*, que con seguridad (especialmente la primera) se encuentran preformadas en la molécula albuminoidea, y quizás también se encuentre preformado en ella el *ácido pirrolidincarbónico*.

La *l-prolina* es un ácido α-pirrolidincarbónico, derivado, por consiguiente, de la *pirrolidina* (pirrol hidrogenado o pirrol con 4 H unidos a los cuatros grupos CH :

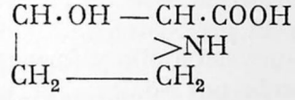


con pérdida de los dobles enlaces), en la cual se ha introducido en posición α un grupo — COOH (se llaman α en el pirrol los átomos de C unidos al grupo imínico, y β a los otros dos ; lo mismo puede decirse de la pirrolidina o hidropirrol). La fórmula de la prolina es, pues :



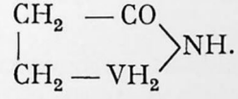
Es una substancia fácilmente soluble en agua.

La *l-oxiprolina* lleva un hidróxilo más que la anterior, quizás en posición β :

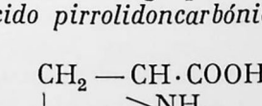


Ésta abunda, por ejemplo, en la gelatina. Tanto la prolina como la oxiprolina se han obtenido por síntesis en forma racémica, desdoblable en los dos antípodas ópticos.

El anillo pirrolidónico es el siguiente :



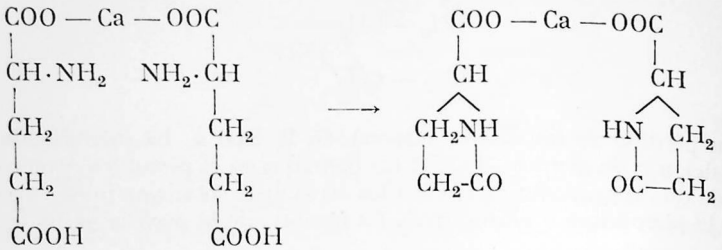
Es, pues, igual al de la pirrolidina, pero con un O en lugar de dos H en uno de los carbonos unidos al grupo imínico. Parece que en ciertas proteínas existe el *ácido pirrolidoncarbónico :*



Es interesante la observación de Abderhalden y Kautsch (1) que calentando la sal cálcica del ácido glutámico se forma la sal cál-

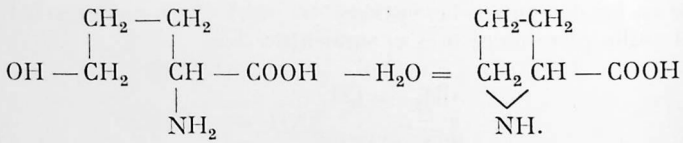
(1) *Zeitschr. f. phys. Chem.*, vol. LXIV, 1910.

cica del ácido pirrolidoncarbónico, según la siguiente reacción, que implica una *clausura del anillo*, esto es, que de una cadena abierta resulta una cerrada :



Tratando el ácido glutámico por alcohol y HCl gaseoso también se transforma fácilmente en éster del ácido pirrolidoncarbónico. Como el ácido pirrolidoncarbónico puede reducirse sin dificultad a prolina, véase como un componente proteico de cadena abierta tiene estrechas relaciones con un componente cíclico y es fácilmente transformable en éste. Casi se podría pensar que el ácido pirrolidoncarbónico no está preformado en la molécula albuminoidea sino que se forma del ácido glutámico durante el proceso de escisión de ésta ; sin embargo, hay argumentos para admitir su preexistencia.

Otro ejemplo de clausura del anillo y formación de cuerpos pirrólicos ha sido proporcionado por Sörensen (1), quien encontró que evaporando ácido α-amino-δ-oxivaleriánico en presencia de HCl se obtenía prolina :



Pero no debe pensarse que se forma prolina de los cuerpos de cadena abierta durante la hidrólisis con los ácidos, porque también se obtiene prolina de la hidrólisis de la gelatina por medio de barita, o sea en ausencia de ácidos y no en las condiciones de la anterior reacción de Sörensen.

Por otra parte no puede excluirse el proceso inverso, esto es, que se puedan formar, natural o artificialmente, aminoácidos de cadena abierta a partir de cuerpos pirrólicos. Es más ; recientemente Troensegaard ha emitido la opinión de que la molécula proteica resulta exclusivamente de anillos heterocíclicos (pirrol, imidazol y piridina) y que sólo en la hidrólisis se abren y aparecen los α-aminoácidos.

(1) *Ivi*, vol. XLIV, 1905.

Considerando rápidamente la fórmula de la prolina y de otros derivados del anillo carbonitrogenado del pirrol, se ve que no se trata de verdaderos aminoácidos, sino de substancias que contienen en vez del grupo amínico (NH_2) el grupo imínico (NH) ; estas substancias, pues, nos demuestran que en la molécula proteica hay constituyentes muy distintos de los aminoácidos.

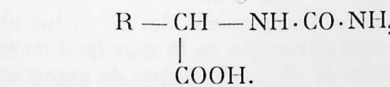
En la desintegración de los albuminoides por diversos medios se separan frecuentemente unas agrupaciones bien definidas de aminoácidos, verdaderos polipéptidos naturales, de los cuales el primero aislado fué la glicil-d-alanina por Fischer y Bergell en 1902, obteniéndola de la hidrólisis de la fibroína de la seda ; después se han descrito muchos otros (tri, tetrapéptidos, etc.). Las *quirinas de* Siegfried pueden quizás incluirse también entre ellos. Los péptidos naturales tienen una analogía perfecta con los polipéptidos artificiales o sintéticos.

Otros grupos constituyentes de la molécula albuminoidea, distintos de los aminoácidos. — Se encuentran en las proteínas, como ya se ha dicho a propósito de los ácidos aspártico y glutámico, grupos amídicos, *amidas* como la *asparragina* y *la glutamina*. De estos componentes deriva el amoníaco que se desprende en pequeña cantidad durante la hidrólisis de las proteínas (no de los grupos amínicos de los ácidos amínados) (1).

En la molécula albuminoidea se halla también el grupo de la *guanidina* $HN = C\langle^{NH_2}_{NH_2}$ de la que ya hemos hablado porque está combinada con la ornitina en la arginina. La guanidina constituye *un núcleo ureógeno*, porque por simple hidratación da urea (y amoníaco) :

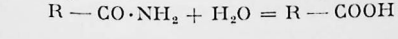
$$HN(C)\langle^{NH_2}_{NH_2} + H_2O = CO\langle^{NH_2}_{NH_2} + NH_3.$$

Probablemente se encuentran también en la molécula proteica compuestos de la urea con los aminoácidos, que han sido preparados también sintéticamente y se llaman *uroaminoácidos*. Tienen la fórmula general :



En muchos albuminoides existen también grupos del tipo de los hidratos de carbono que, al ser separados por hidrólisis, presentan pro-

(1) El esquema de la reacción por la cual se forma amoníaco por simple hidratación de las amidas (como sucede con la ebullición prolongada, por ejemplo, con ácidos), es la siguiente :



piedades reductoras. Un componente frecuente de este grupo es la *d-glucosamina* o *quitosamina* ya mencionada (pág. 66). Existen proteidos en los cuales la riqueza en hidratos de carbono es elevadísima (glucoproteidos); pero parece que de 1 a 10 % de casi todas las proteínas (1) está integrado por complejos reductores de este tipo (por lo tanto con grupos aldehídicos o cetónicos) y en este hecho se basa la *reacción de* MOLISCH que presentan muchas proteínas: tratando el albuminoide con un ácido fuerte se forman productos de descomposición de carácter aldehídico y precisamente del componente que tenía carácter de hidrato de carbono: furfurol, aldehido pirúvico, formaldehido, etc. Estos derivados aldehídicos reaccionan con cuerpos aromáticos diversos (naftol, triptófano, etc.), dando origen a productos de condensación coloreados (a 5-6 c. c. de la solución proteica que se examina se añaden 2 gotas de solución alcohólica al 10 % de α-naftol; se dispone en el fondo una capa de ácido sulfúrico concentrado: anillo violeta en la zona de contacto).

En la hidrólisis de las proteínas con los ácidos se forman también substancias negras, llamadas *húmicas (cuerpos húmicos, ácidos húmicos)* que son probablemente productos de condensación de los complejos cíclicos de la molécula albuminoidea. Se conocen con el nombre de *melaninas artificiales*.

DUCCESCHI demostró (2) que por ligera oxidación de la tirosina pueden obtenerse productos melánicos. Este investigador, seguido de otros muchos, han contribuído a aclarar el origen de estos cuerpos húmicos o melaninas artificiales que se obtienen en la hidrólisis de las substancias proteicas. Más recientemente GORTNER (3) y ROXAS (4) confirmaron que la tirosina tiene gran importancia en la génesis de las substancias húmicas. Y no es tampoco inverosímil que los grupos heterocíclicos y especialmente pirrólicos también contribuyan a ello, como veremos a propósito de las verdaderas melaninas o melaninas naturales, como lo ha hecho suponer la formación del *negro de pirrol* (ANGELI).

Las varias fracciones del nitrógeno proteico. — Se sigue actualmente el criterio de VAN SLYKE introducido para la diferenciación de las distintas fracciones del N proteico.

Todo lo dicho nos dispensa de muchos detalles que no pueden ser debidamente desarrollados en esta obra.

Hemos visto que una pequeña parte del N de los albuminoides forma parte de amidas; esta fracción es la más fácil de separar, porque la hidrólisis con ácidos la libera en forma de amoníaco. Tenemos

(1) Algunos creen verdaderamente que sólo los glucoproteidos contienen el grupo reductor y que las otras proteínas parece que lo contengan por acompañarles como impureza alguno de los glucoproteicos, que están muy difundidos (mucinas).

(2) *Rendic. Acc. Lincei*, vol. X, 3 marzo 1901.

(3) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XXVI.

(4) *Ivi*, vol. XXVII.

también el N llamado *básico* que es el de los diaminoácidos, de la histidina y de la cistina: en efecto, éstos son aminoácidos con función marcadamente básica y se precipitan, una vez separados por la hidrólisis, por medio del ácido fosfotúngstico (por procedimientos ulteriores se pueden separar estos ácidos entre sí). Hay también el N de los otros aminoácidos o N amínico por excelencia. Finalmente tenemos el nitrógeno de las iminas o N imínico, que es el de la prolina, oxiprolina y la mitad del contenido en el triptófano (que tiene un grupo NH).

Las líneas generales del método que se sigue son:

Hidrólisis del albuminoide mediante ebullición prolongada con ácidos. El N amídico se separa en forma de amoníaco; para recogerlo basta alcalinizar ligeramente el hidrolizado con hidrato de calcio o bario y destilar a baja presión: el NH_3 se puede dosificar en el destilado y de la cantidad encontrada se deduce el N *amídico*. Se filtra después el hidrolizado; sobre el filtro queda el exceso de cal y las substancias melánicas o húmicas (cuyo N puede dosificarse por el Kjeldahl: N *húmico)*. El filtrado se acidula y se precipitan con ácido fosfotúngstico las bases hexónicas dichas y la cistina; se recoge el precipitado y se determina el N con el Kjeldahl: éste es el N *básico*. Entonces con el nuevo filtrado, privado del exceso de ácido fosfotúngstico y neutralizado, se hacen dos determinaciones: en una porción se valora el N total por el Kjeldahl y en la otra se determina el N de los grupos amínicos libres (N *amínico*) por el método de Van Slyke (véase método en la parte III). El N total da la suma del N amínico + el N imínico; la diferencia entre el N total por el Kjeldahl y el N por el Van Slyke nos da, pues, el N *imínico*.

He aquí algunos valores centesimales de las distintas fracciones de N proteico en algunos albuminoides (MATHEWS):

	Gliadina (trigo)	Queratina (pelo de perro)	Gelatina	Fibrina	Oxihemoglobina
N amoniacal	25,52	10,05	2,25	8,32	5,20
N húmico (melánico)	0,86	7,42	0,07	3,17	3,60
N básico	12,91	30,78	25,50	31,19	31,30
N amínico	51,98	47,50	56,30	54,30	57,00
N imínico	8,50	3,10	14,90	2,70	2,90
TOTALES	99,77	98,85	99,02	99,68	100,00

Diversidad y especificidad de las proteínas. Vemos, pues, que la molécula proteica está constituída por un número notable, pero no grandísimo, de agrupaciones atómicas más o menos características, de

Proporción de aminoácidos

Por ciento de substancia seca	Sero-albúmina cristalizada (caballo)	Ovo-albúmina cristalizada (pollo)	Lactalbúmina (vaca)	Seroglobulina (caballo)	Proteína de Bence-Jones	Caseína (vaca)	Vitelina (huevos)	Sintonina (músculos estriados)	Fibrina	*Histona del timo*
Glicocola	0	0	0	3,5	1,7	0	1,1	0,5	3,0	0,5
Alanina	2,7	2,1	2,5	2,2	4,5	1,5	0	4,0	3,6	3,5
Ácido aminovaleriánico	—	?	0,9			7	2,4	0,9	1,0	
Leucina	20,5	6,1	19,4	15	10,6	Ca 10	11,0	7,8	15,0	11,8
Ácido glutámico	7,7	9,0	10,2	8,5	6,0	15,5	12,2	13,6	10,4	0,5
Ácido aspártico	3,1	1,5	1,0	2,5	4,5	1,2	0,5	0,5	2,0	0
Serina	0,6	—				0,5	0		0,8	
Cistina	2,5	0,2	Ca 0,2	Ca 1		0,1		+		
Lisina	—	2,5	8,1		+	7,6	2,4	3,3		0,9
Arginina	—	2,1			+	3,8	1,1	5,0	30	15,5
Fenilalanina	3,1	4,4	2,4	3,8	1,5	3,5	2,8	2,5	2,5	2,2
Tirosina	2,1	1,1	2,2	2,5	1,7	4,5	1,6	2,2	3,5	5,2
α-Prolina	1,0	2,25	4,5	2,8	1,9	6,7	3,3	3,3	3,6	1,5
Triptófano	1,3	2,6	2,9	4,4		2,2				1,1
Histidina	—	0	1,5		+	2,6	+	2,7	+	1,5
Glucosamina	?	10		?						

Contenidos en algunas proteínas

Globina (sangre de caballo)	Histona (bacalao)	Salmina	Pseudomucina	Elastina	Queratina (cuerno de carnero)	Queratina (lana de oveja)	Queratina (huevo)	Glutina	Fibroína (seda)	Espongina	Amiloide	Zeína (maíz)	Gliadina (trigo)
0				25,8	0,5	0,6	3,9	25,5	36,0	13,9	0,8	0	0
4,2		0		6,6	1,6	4,4	3,5	8,7	21,0	?		13,39	2
		1,6		1,0	4,5	2,8	1,1	0	+	?		1,88	3,34
30		0	4,7	21,4	15,3	11,5	7,4	7,1	1,5	7,5	22,2	19,55	6,62
1,7			+	0,8	27,2	12,9	8,1	5,8	0	18,1	3,8	26,17	43,66
4,4					2,5	2,3	1,1	3,4	+	4,7		1,71	0,58
0,6		3,2			1,1	0,1	+	0,4	1,6			1,02	0,13
0,3		0			7,5	7,3	7,6					?	0,45
4,3	8,4	0	2,6	+	0,2			5,9	+	3-4	11,6	0	?
5,4	15,5	89	0,3	0,3	2,7			8,2	4,0	5-6	13,9	1,55	3,16
4,2				3,9	1,9			1,4	1,5	?		6,55	2,35
1,5		0	1,1	0,3	3,6	2,9	0	0,01	10,5	0	4,0	3,55	1,5
2,3		4,3		1,7		4,4	4,0	9,5	+	6,3	3,1	9,04	13,22
—				0	1,2	1,2		0	+			0	1,0
11	2,3	0	0	0,3				0,9	+		0	0,82	1,49
			hasta 30					0					

las cuales algunas se repiten con frecuencia, aunque en número y disposición diversa, en los albuminoides más variados.

Los albuminoides analizados por los métodos químicos son numerosísimos, pero la Biología descubre diferencias íntimas entre las proteínas químicamente iguales, con lo cual el número de las mismas crece desmesuradamente. En efecto, las substancias proteicas tienen una *especificidad de órgano* o *tejido* y una *especificidad zoológica*, acentuadísima en ciertos casos, que son la base de las reacciones inmunitarias y de métodos biológicos de gran importancia práctica. Es difícil decir que diferencia química existe entre las proteínas del plasma de un perro y las del plasma del caballo o del hombre; sin embargo, si se inoculan las primeras a un conejo, el suero de éste adquiere propiedades precipitantes específicas para el suero de perro, mientras que se comporta como suero normal respecto al del caballo o del hombre.

El método inmunitario diferencia pues claramente las proteínas, aun las químicamente iguales, según su procedencia zoológica. Con éste, pero mejor aún con otros métodos, se pueden diferenciar hasta cierto punto las proteínas de órganos y tejidos diversos de un mismo animal: se reconoce así que cada órgano tiene albuminoides estructuralmente diferenciados y sabe mantener tenazmente su característica química o físico-química que es la base de su función particular.

¿Cómo es posible que con los veinte o pocos más agrupamientos fundamentales antes citados pueda construir el organismo todas las proteínas posibles? Ante todo, variando la *naturaleza* y la *cantidad* de cada aminoácido en la molécula. En el cuadro transcrito en la página precedente se encuentran las proporciones de aminoácidos sencillos contenidos en varios albuminoides animales importantes y en algunos de origen vegetal. Se ve que no todas las proteínas contienen *todos* los aminoácidos conocidos, y que alguno de éstos existe en proporciones variadísimas en la molécula de cada albuminoide, o sea que está repetido más o menos veces.

Tiene además importancia para diferenciar las proteínas el *orden* con que cada agrupación elemental está encadenada: piénsese de cuán distintas maneras pueden ser agrupados unos veinte aminoácidos que además están casi todos repetidos varias veces en la molécula. El cálculo matemático de las combinaciones puede darnos cifras sorprendentes. También para los polipéptidos sintéticos relativamente sencillos aparecen diferencias importantes según el orden de unión de los aminoácidos simples: la alanil-glicocola o alanil-glicina es desintegrada por el jugo pancreático, mientras que la glicil-alanina no lo es por este fermento. Con glicocola, d-alanina y e-leucina Abderhalden ha preparado 6 tripéptidos distintos, 6 isómeros con propiedades químicas algo diferentes y diversamente atacables por las enzimas.

Finalmente pueden influir las propiedades ópticas de cada uno de los aminoácidos: esto se comprueba, según los estudios de Fischer y de Abderhalden, en los péptidos más sencillos, que son como una miniatura de las proteínas. En el organismo no se encuentra nunca la

d-leucina y la l-alanina, sino siempre y exclusivamente la l-leucina y la d-alanina; ahora bien, ciertos péptidos formados por estos dos últimos isómeros naturales (d-alanil-alanina y l-leucil-leucina) son atacados por el jugo pancreático con quinasa, mientras que los péptidos integrados por los mismos isómeros artificiales o con uno de éstos y otro natural (d-alanil-alanina, l-alanil-d-alanina, l-leucil-d-leucina, d-leucil-l-leucina) no son atacados. Y por lo que atañe a los verdaderos albuminoides, la ovoalbúmina de gallina y de pato parece que contienen iguales cantidades de ácido aspártico, histidina y leucina, pero con propiedades ópticas diversas; y ambas difieren cuando se emplean como antígenos en pruebas inmunitarias (Dakin y Dale).

La especificidad zoológica parece que va unida a determinadas agrupaciones químicas: en los tratados de inmunología (1) se citan con frecuencia las experiencias de Obermeyer y Pick (2) y las más recientes de Landsteiner y Lampl (3), que demostraron que varias intervenciones químicas verificadas en las proteínas (introducción de halógenos, de grupos NO_2. unión con cuerpos aromáticos varios por diazotación) sirven para desnaturalizarlas de tal manera que pierden la especificidad de su origen y les comunican una nueva especificidad constitutiva. Así, una albúmina yodada de gallina no reacciona con sueros precipitantes anti-gallina (obtenidos tratando, por ejemplo, un conejo con albúmina de gallina), pero reacciona con sueros precipitantes obtenidos tratando el animal productor de suero con la misma albúmina yodada, de cualquier procedencia zoológica.

Hay proteínas que carecen de especificidad zoológica de manera absoluta o casi absoluta y tienen solamente una acentuada especificidad de órgano o constitutiva: así pasa con las del cristalino del ojo y quizás con las queratinas. En efecto, ni con el método de las precipitinas específicas, ni con el experimento anafiláctico se consigue diferenciar los cristalinos de animales aunque se hallen muy distantes unos de otros en la escala zoológica. Un suero anti-cristalino de buey precipita las proteínas del cristalino del conejo y aun de vertebrados más inferiores, exactamente igual que las del cristalino del buey. Viceversa, un suero obtenido contra los albuminoides del plasma sanguíneo del buey tiene poca acción sobre las proteínas del cristalino del mismo animal, mientras que comúnmente las proteínas de los varios órganos (riñón, hígado, etc.) y de la sangre de una especie dada tienen una reactividad serológica común, es decir, cierta similitud química (comunidad de *receptores*, según la concepción de Ehrlich), aun poseyendo una cierta especificidad de órgano. También para las queratinas parece que puede admitirse una especificidad zoológica escasa, y en cambio en ellas se encuentra acentuada la especificidad de tejido.

---

(1) Véase, por ejemplo, el I volumen del Tratado de Lustig y colaboradores, *Malattie infettive*, 2.ª edición. Vallardi, Milán.
(2) *Wien, Klin. Woch.*, 1906.
(3) *Bioch. Zeitschr.*, vol. LXXXVI, 1918.

Probablemente las proteínas de las células sexuales tienen también un comportamiento serobiológico propio y son en cierto modo *más extrañas* químicamente a la composición química del plasma sanguíneo que no los albuminoides de los demás órganos. Tienen, pues, una especificidad de tejido o constitutiva muy acentuada, aunque *también* poseen una especificidad zoológica enorme (1).

b) Reacciones de las proteínas. Sus propiedades coloidales.

Las *proteínas* se caracterizan por reacciones coloreadas y por reacciones de precipitación.

Las *reacciones coloreadas* son debidas generalmente a determinados grupos componentes de la molécula proteica; se obtienen, pues, con un albuminoide determinado siempre que éste contenga el grupo atómico que interviene en la reacción de referencia.

Enumeremos las más importantes:

Reacción xantoproteica. Las proteínas dan con el ácido nítrico un color amarillo que pasa a anaranjado cuando se alcaliniza con hidrato sódico o amoníaco. Es debida a los núcleos bencénicos (por ejemplo: de la fenilalanina).

Reacción de Millon. Se prepara el reactivo disolviendo una parte, en peso, de mercurio en dos de ácido nítrico, diluyendo con un volumen de agua dos veces mayor y dejando sedimentar; el líquido que sobrenada (nitrato y nitrito mercúricos) es el usado para la reacción. Se añaden dos o tres gotas de reactivo a la solución o suspensión de proteína, y se calienta: se obtiene un precipitado de color rojo, que aparece lentamente. Es debida al anillo bencénico monohidroxilado, o sea al grupo monofenólico (como el que se encuentra en la tirosina: los albuminoides sin tirosina — como la gelatina — no dan esta reacción).

Reacción del biuret. El *biuret* es un cuerpo que se obtiene calentando urea seca, por condensación de dos moléculas de ésta y eliminación de amoníaco:

$$CO\begin{matrix}NH_2\\NH_2\end{matrix} + CO\begin{matrix}NH_2\\NH_2\end{matrix} = NH_2 - CO - NH - CO - NH_2 + NH_3.$$

Este cuerpo y, como ha demostrado Schiff, todas las combinaciones de constitución amídica con dos grupos amídicos unidos a distintos átomos de carbono, dan en disolución fuertemente alcalina una reacción coloreada característica con las sales de cobre o de otros metales. Se comprende que también se obtendrá esta reacción con las proteínas, las cuales contienen siempre grupos amídicos, de los cuales uno por lo menos es libre, y otro, diversamente sustituído, está

(1) Para más detalles véase el capítulo del autor de este libro sobre la inmunidad en el Tratado de Lustig ya citado.

unido al átomo de C más próximo al anterior. Así, pues, esta reacción revela la existencia en el albuminoide del grupo: $NH_2 \cdot CO \cdot CO \cdot NH \cdot R$.

La reacción se practica alcalinizando fuertemente la solución proteica (o de peptona o de otros cuerpos que contengan el grupo del biuret) con hidrato sódico o potásico, y añadiendo después una gota de sulfato de cobre muy diluído: se obtiene un color violeta o rojo, que aparece lentamente en frío, y a veces con más rapidez si se calienta de una manera moderada.

Reacción del triptófano. Existe un grupo de reacciones debidas a la presencia de triptófano en la molécula proteica (faltan, pues, en la gelatina, zeína, etc. que carecen de este aminoácido). El triptófano da con ácido sulfúrico concentrado y ácido glioxílico (COH·COOH) un color violeta, porque, probablemente por efecto del ácido fuerte, se condensa en productos coloreados. No se sabe todavía si el ácido glioxílico actúa como catalizador de la reacción o tomando parte en el proceso de condensación por su grupo aldehídico. Esta reacción se llama de Hopkins-Cole, aunque antes de que fuese descrita por estos investigadores ya se conocía bajo la forma clásica de *reacción de* Adamkiewicz, en la cual se empleaba ácido acético en vez de ácido glioxílico (el ácido acético cristalizable del comercio contiene siempre indicios de ácido glioxílico). La reacción de Adamkiewicz se practica añadiendo a la solución proteica (2-3 c. c.) una parte aproximadamente igual de ácido acético, y disponiendo luego debajo de ella ácido sulfúrico concentrado: anillo violeta. El ácido glioxílico es, como se ve por su fórmula, un aldehido; por lo tanto puede ser sustituído por otro aldehido (formaldehido: en efecto, si la leche contiene formaldehido añadido para conservarla, da con los ácidos fuertes y un indicio de sal de hierro, un color violeta).

Los albuminoides, lavados con éter y alcohol y tratados después solamente con H_2SO_4, dan también el color azul violeta característico (reacción de Liebermann), probablemente porque el éter contiene también indicios de ácido glioxílico o porque el alcohol y el éter van acompañados de indicios de otros aldehidos, y al tratar después con ácidos fuertes se obtiene la reacción del triptófano.

El triptófano da, igualmente como varios cuerpos aromáticos, una coloración rosa con el furfurol y el metilfurfurol: en el fondo se trata también de un aldehido (el furfurol es el aldehido furánico) y nos encontramos en el caso de la formación de productos de condensación coloreados, integrados por cuerpos aromáticos y aldehidos diversos. Se comprende, pues, que tratando una proteína con ácido sulfúrico y azúcar (en caliente) se obtenga, por el desarrollo de furfurol a expensas del azúcar, la reacción cromática de que tratamos: esta reacción es la que encontraremos más adelante con el nombre de *reacción de* Pettenkofer para los ácidos biliares (que también son compuestos cíclicos que reaccionan con el furfurol).

Pero los albuminoides contienen frecuentemente un núcleo hidrocarbonado y encierran, por decirlo así, azúcar preformado, por lo cual

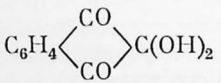
se comprende que calentando muchas proteínas (por ejemplo la albúmina de huevo) con un ácido fuerte concentrado, se obtenga el color rojo sin necesidad de añadir azúcar : en efecto, del núcleo del hidrato de carbono se desarrolla aldehido que reacciona con el grupo del triptófano y da la reacción.

Por otra parte la *reacción de* MOLISCH, ya citada en la página 106, es una forma de igual mecanismo reactivo : con α-naftol y ácido sulfúrico se produce un color violeta (que muchas veces tiene un matiz azul) que revela la presencia del núcleo hidrocarbonado. En este caso se añade artificialmente un cuerpo aromático para revelar el hidrato de carbono (o el aldehido que de él deriva por la acción del ácido fuerte), mientras que en la reacción del tipo PETTENKOFER se añade el azúcar (que desarrolla aldehido) para demostrar un núcleo aromático.

Finalmente, el triptófano reacciona también con aldehidos aromáticos, y en esto se basa la reacción de NEUBAUER y RHODE con p-dimetilaminobenzaldehido y ácido sulfúrico : debajo de la solución proteica se dispone una capa de ácido sulfúrico concentrado en el cual se ha disuelto un poco de p-dimetilaminobenzaldehido : anillo rojo violeta.

Reacciones que revelan el azufre. Hiérvase la solución del albuminoide con sosa cáustica ; el S se separa en parte como sulfuro que se reconoce añadiendo un poco de acetato de plomo : color negro.

Reacción de la ninhidrina. Este cuerpo es el hidrato de triquetohidrindeno :



y da una coloración azul cuando se hierve con proteínas, aminoácidos, peptonas, péptidos y, en general, con las substancias que contienen un grupo amínico y un grupo carboxílico libres. Se disuelven 0,1 gr. de ninhidrina en 30 c. c. de agua destilada; se vierten 1-2 gotas de esta solución en 1 c. c. del líquido que se examina y se hierve ; el color azul (reacción positiva) aparece tardíamente, al enfriarse. Para la investigación de los aminoácidos en el dializado de la reacción que lleva su nombre, ABDERHALDEN recomienda añadir 0,2 c. c. de solución al 1 % de ninhidrina a 10 c. c. del dializado y hervir durante un minuto a partir de la aparición de las primeras burbujas de aire en las paredes del recipiente. La reacción del material que se examina debe ser neutra ; muchas veces es útil añadir una solución de sales amortiguadoras, ajustada alrededor de pH = 7. La reacción es negativa con la prolina (que no contiene el grupo NH_2), con la glucosamina y con la urea. El carbonato de NH_4 da color rojo. Sin embargo, DEETJEN y FRAENKEL (1) aseguran haber obtenido reacción positiva con la glucosamina.

(1) *Münch. med. Woch.*, 1914, pág. 466.

Varias aminas, aminoaldehidos, y la taurina aun no teniendo el agrupamiento característico, dan, según NEUBERG (1) la reacción ; así pues, en la putrefacción se formarían abundantes cuerpos capaces de determinar la reacción dicha. Además, según NEUBERG (2) los ácidos trisulfúrico y selenioso, el sulfhídrico combinado con el NH_3, ciertos metales (Mg, Al) y el formiato y tiolactato de amonio también producen coloración con la ninhidrina.

Los resultados de esta reacción, tan preconizada para el reconocimiento de los aminoácidos, deben, pues, aceptarse con reserva.

Las reacciones de precipitación dependen de las propiedades coloidales de las proteínas. Mientras que las reacciones coloreadas son esencialmente debidas a la presencia de determinados agrupamientos atómicos, las de precipitación están relacionadas, por el contrario, con el estado físico-químico de los albuminoides. En efecto, estos cuerpos tienen unas moléculas de volumen considerable y por esto solamente forman en el agua soluciones que poseen todos los caracteres de los soles coloidales: no se trata, como en muchos coloides inorgánicos, de una dispersión en estado de ultramicrones o micelas constituídas por agregados de varias moléculas, sino simplemente de una dispersión molecular que implica una falta de homogeneidad óptica y todas las demás propiedades coloidales por el enorme volumen de cada molécula. Según las modernas ideas, las proteínas se encuentran también en estado de disociación iónica, siendo verdaderos *electrólitos anfóteros* o *anfolitos*, como los aminoácidos de los cuales resultan. Al disolverlas en agua quedan libres un número igual de $H^{\cdot}$ y de OH', mientras que el resto de la molécula constituye un ion gigantesco *(protein iones)*, como veremos en seguida.

Un sol proteico o solución de proteína presenta, pues, una fase acuosa y otra fase constituída por las moléculas o iones gigantes del albuminoide, imbibidas también de agua : en rigor, como observa HEUBNER, no hay superficies distintas de separación en los biocoloides, especialmente por lo que hace referencia a los constituyentes fundamentales, los proteicos. Hasta cuando las proteínas se presentan en estado de gel es probable también (pero no siempre seguro) que el agua penetra más o menos en la masa compacta del gel.

De todos modos los albuminoides tienen todas las propiedades de los coloides anteriormente descritas y, por lo tanto, sus soluciones presentan el *fenómeno de* TYNDALL y por medio del ultramicroscopio se observan en ellas las micelas características agitadas por el movimiento browniano o al menos una luminosidad difusa ; tienen una presión osmótica débil, que no parece debida del todo a las impurezas salinas difíciles de separar, sino en realidad a la energía cinética de las moléculas, y es baja porque es escaso el número de éstas por unidad de volumen, dadas sus grandes dimensiones. Las soluciones de

(1) *Bioch. Zeitschr.*, vol. LVI, 1913.
(2) *Ric. di Biol.* dedicadas al Prof. LUSTIG, Florencia, 1915.

proteínas poseen, pues, un punto de congelación muy poco inferior al del agua pura (por ejemplo 0°,02 para una solución al 14 % de ovalbúmina). Las proteínas son poco o nada dializables, esto es, no pasan a través de los poros de las membranas animales ; así la diálisis a través de una membrana de vejiga de pescado es usada frecuentemente para eliminar las impurezas salinas que acompañan a las soluciones proteicas (las sales y los demás cristaloides pasan a través de la membrana de los dializadores, mientras que las proteínas no poseen esta propiedad o la poseen en muy pequeño grado). Con gelatina, porcelana o colodión acético se pueden construir los llamados *ultrafiltros* con poros de dimensiones determinadas, aptos para dejar pasar ciertos coloides y otros no, ciertos albuminoides pero no otros (ultrafiltración).

Las soluciones de proteínas tienen los caracteres de los coloides *emulsoides ;* por lo tanto poseen una tensión superficial muy inferior a la del agua (1) y una atracción interna o viscosidad mucho mayor. Son, pues, coloides *reversibles* o *hidrófilos ;* véase lo dicho en el capítulo III. Muchos procesos de precipitación de las proteínas son fácilmente inteligibles con esta definición : así, ocurre en la *salazón* o *precipitación reversible con cantidades elevadas de sales neutras* (sultato amónico, de sodio, de magnesio) que tanta importancia tiene porque sirve para aislar determinados grupos de albuminoides según la concentración de la sal empleada (así semisaturando el líquido con sulfato amónico precipitan todas las globulinas, mientras que las albúminas no precipitan o sólo lo hacen cuando se satura al 65 ó 100 % ; por su parte, las globulinas, por ejemplo, del plasma sanguíneo, se dividen en tres fracciones, según que baste la saturación del 25 %, del 32 % o del 48-50 % de esta sal para precipitarlas).

Pero lo que da el verdadero carácter de coloides emulsoides a las proteínas, es el hecho de la *disociación electrolítica* de su molécula, disociación que se produce con igual intensidad, en la forma propia de los ácidos como en la de las bases, quedando libres, pues, un número de iones H igual al de los iones OH. Examinando la fórmula del aminoácido más sencillo, la glicocola, en estado hidratado comprenderemos con claridad por qué los albuminoides se comportan de esta manera. La glicocola, disuelta en agua, es :

$$\begin{matrix} CH_2 \cdot NH_2 \\ | \\ COOH \end{matrix} + H_2O = OH - NH_3 \cdot CH_2 \cdot COO - H,$$

y una proteína cualquiera, que es un compuesto de muchos aminoácidos, podrá ser representada así : OH — proteinión — H.

(1) Todas las substancias proteicas disueltas en agua (sol proteico) que hacen descender la tensión superficial del agua, son, como se dice, *batotonas*.

Hasta hace poco se exceptuaban los albuminoides de la clara de huevo (ovoalbúmina y ovoglobulina), pero esta excepción, de la que Bottazzi ya dudaba, está actualmente recusada por las observaciones de Quagliariello (*Rend. R. Acc. d. Lincei*, vol. XXXI, s. 5.ª, 2 enero 1922).

Podemos decir, pues, que las proteínas tienen, como un ácido cualquiera, una constante de disociación ácida K_a y, como una base cualquiera, una constante de disociación básica K_b. Ya hemos visto anteriormente que la fuerza de un ácido o de una base es función de la cantidad de H' o de OH' disociados, o sea, de la relación que exista, a una cierta temperatura constante, entre la concentración de las moléculas disociadas y la concentración de las no disociadas, relación que es la llamada *constante de disociación*.

Un albuminoide puro, en solución neutra, es eléctricamente neutro : no emigra hacia ninguno de los electrodos o se dirige igualmente a los dos polos. En realidad, la molécula proteica está completamente descargada, porque *no disocia* H' ni OH' o disocia *pocos* y *en igual cantidad* (de otro modo la solución no sería neutra).

Si, por el contrario, la proteína está en solución ácida o alcalina, entonces su comportamiento es respectivamente el de una base o de un ácido. La molécula proteica en solución ácida se disociará, por lo tanto, como lo haría una base cualquiera (tomemos como comparación el hidrato sódico) :

$$NaOH = Na' + OH'$$
$$H \cdot Prot \cdot OH = (H \cdot Prot)' + OH'$$

mientras que en solución alcalina se disociará como un ácido cualquiera (tomemos como comparación el ácido nítrico) :

$$HNO_3 = H' + NO'_3$$
$$H \cdot Prot \cdot OH = H' + (Prot \cdot OH)'.$$

En el primer caso el ion proteico, y precisamente el catión $(H \cdot Prot)'$ emigra durante la cataforesis hacia el cátodo, porque tiene carga positiva ; mientras que en el segundo caso el ion proteico, o sea el anión $(Prot \cdot OH)'$, se dirige hacia el ánodo, como todos los aniones.

He aquí cómo un albuminoide es un electrólito anfótero, pudiendo obrar como catión en medio ácido y como anión en líquido alcalino. Algunos dicen simplemente que se forman *sales*, por ejemplo, clorhidrato de proteína o albuminatos de metales alcalinos, en los cuales la proteína hace de base o de ácido.

Una proteína en solución perfectamente neutra se puede designar con el nombre de *proteína neutra*, y las que se encuentran en solución ácida o alcalina con el nombre de *proteínas ionizadas ;* la primera está descargada, mientras que las segundas tienen una carga + o — según sea la reacción del medio.

Es necesario saber que la conducta de los albuminoides es muy distinta según que sus partículas estén descargadas (proteín-moléculas) o cargadas (proteín-iones). El albuminoide con partículas descargadas, o proteína neutra, se parece mucho a los coloides suspensoides (se dice también que está *desnaturalizado)* y puede precipitar fácilmente

por el calor o el alcohol; su solución tiene menor viscosidad y tiene una tensión superficial mínima (Bottazzi y sus discípulos), tiene menor poder refringente, menor conductibilidad eléctrica y menor presión osmótica; se inclina más a la precipitación *irreversible*, siendo muy sensible también a pequeñas cantidades de electrólitos (sales); en resumen, es de una *estabilidad mínima* porque las moléculas que lo integran tienen poca afinidad con las moléculas acuosas: no tienen tendencia a hidratarse, por lo cual fácilmente se aglomeran y floculan entre sí. Al contrario, en la proteína hidrolizada existen iones proteicos, dotados de gran afinidad para el agua, o sea *hidratables;* también encontramos una menor floculabilidad o, lo que es lo mismo, una mayor estabilidad, y están más marcados todos los caracteres de los emulsoides, que dependen quizás de la hidrofilia de las partículas coloidales. Las proteínas ionizadas no son, pues, precipitadas tan fácilmente por el calor y en efecto todos los médicos saben que si se acidifica demasiado una orina cuando se investiga la albúmina por ebullición, la albúmina no precipita y pueden obtenerse resultados negativos falsos (1). Las proteínas ionizadas no son precipitables por el alcohol, porque la acción deshidratante de éste no es suficiente para quitar el agua a los iones proteicos de la que son muy ávidos. Al crecer la ionización (acidificación o alcalinización creciente) aumentan de intensidad todas aquellas propiedades que son peculiares de los iones y que en parte derivan de su hidratación; así sucede con la viscosidad y la tensión superficial; también crecen la refrigencia, el poder rotatorio, la presión osmótica y la conductibilidad eléctrica.

Pero continuando la adición de ácido o de base más allá de la neutralización completa, se sobrepasa el grado máximo de disociación y por lo tanto de concentración iónica, disminuye la intensidad de las propiedades anteriores por el retroceso que sufre la disociación de la sal a causa de los iones comunes. Si, por ejemplo, se añade HCl a la proteína, se forma clorhidrato de proteína, cuya disociación disminuye por la presencia de Cl′ en exceso, ion común al ácido y a la sal. Este punto está desarrollado en los trabajos de Pauli, Michaelis y, para lo referente a la tensión superficial, en los de Bottazzi (2), Bottazzi y D'Agostino (3) y de Quagliariello (4) quien ha aplicado estas nociones fundamentales al estudio de las propiedades físico-químicas de las soluciones de hemoglobina bajo la influencia de los ácidos y de las bases (5).

(1) Si queremos utilizar una muestra de orina que hayamos acidulado con exceso, bastará añadirle sales neutras (por ejemplo, NaCl) en concentración moderada para conseguir la deshidratación de los iones proteicos y, por consiguiente, que la albúmina recobre cierta precipitabilidad. Después de esto no hay más que calentar como de ordinario.

(2) *Arch. di Fisiol.*, vol. VII, 1909.

(3) *Rendic. Acc. Lincei*, vol. XXI, s. 5.ª, 2.° sem. 1912.

(4) *Arch. Scienze biol.*, vol. II.

(5) Bottazzi *(Giorn. di Biol. e Med. sper.*, vol. I, fasc. 4, 1923) ha encontrado también recientemente, trabajando con soluciones de seroalbúmina y globulina, caseína y gelatina, que se confirma la siguiente ley general: las soluciones de albuminoides tienen el mínimo de tensión superficial en el punto isoeléctrico o de mínima ionización (véase más arriba), y dice que éste puede también determinarse mediante el estudio de la tensión superficial por estalagmometría) con igual exactitud que con otros métodos. Son, pues, las moléculas, y no los iones, las que tienen acción batótona, quizás porque están dotadas de menor afinidad por el agua, tanto que tienden a concentrarse en la superficie libre. Schade en el libro antes citado incluye resultados opuestos para la tensión superficial; en el punto isoeléctrico se tendría el mínimo de acción batótona o depresora de la tensión superficial; según él, en este punto la tensión superficial alcanza el valor máximo, pero debe advertirse que probablemente se refiere a la tensión superficial de las *partículas consideradas aisladamente* y no del conjunto de la solución: quizás aquí está la clave de esta contradicción aparente.

(1) *Journ. Gen. Physiol.*, vol. I, 559.

(2) *Id.*, vol. III, pág. 547.

Recientemente Loeb (1) insiste sobre la combinación de la albúmina de huevo cristalizada con los ácidos bibásicos y tribásicos, afirmando que estas combinaciones se verifican en proporciones moleculares; lo mismo puede decirse de la caseína (2) respecto a los ácidos y bases. Las fuerzas que determinan las combinaciones entre ácidos o bases y proteínas, son las mismas valencias primarias que provocan las reacciones entre ácidos o bases y cristaloides. En realidad, pues, las proteínas se comportan como verdaderos cristaloides, con la sola diferencia de las enormes dimensiones de uno de los iones (ion proteico) de la molécula.

Una característica fija de cada albuminoide es lo que se llama, según L. Michaelis, su punto isoeléctrico: éste es el punto de la reacción en cual la proteína tiene el mínimo de ionización y por lo tanto presenta acentuadas todas las propiedades de las proteínas con partículas descargadas o neutras, por lo tanto el mínimum de estabilidad y el mínimum de todos los caracteres que se derivan de las propiedades iónicas. Después de todo lo dicho, parece que este punto crítico verdadero y propio correspondiente a la mínima ionización e hidroafinidad, debería estar próximo a la reacción neutra, a un pH = 7 aproximadamente. Sin embargo, no es así, porque las proteínas puras, disueltas en agua destilada pura, no dan soluciones perfectamente neutras: en ellas K_a no es igual a K_b, sino que generalmente $K_a > K_b$, es decir, que la solución es ligeramente ácida (sólo en las protaminas e histonas es ligeramente alcalina). Esto significa que los albuminoides tienen un ligero predominio del carácter ácido, y en agua pura se disocian de la manera siguiente: $(OH \cdot Prot)' + H^{\cdot}$.

Por lo tanto, para lograr que una proteína esté perfectamente o casi indisociada, para tener el máximo de moléculas $(OH \cdot Prot \cdot H)$ y el mínimo de iones $(OH \cdot Prot)'$ y $H^{\cdot}$, habrá que añadir un ácido lentamente, el cual mediante sus propios iones H hará retroceder la disociación de la proteína por el conocido principio que la disociación de un electrólito disminuye en presencia de otro electrólito que tenga un ion común con el primero. Por otra parte el ácido, mientras hace retrogradar la disociación de los iones H de la proteína, reacciona con los grupos amínicos de la misma y sustrae a ésta OH-iones; esto es, mientras reduce el carácter ácido o electronegativo del albuminoide,

(1) *Journ. Gen. Physiol.*, vol. I, 559.

(2) *Id.*, vol. III, pág. 547.

acentúa su carácter básico o electropositivo. En resumen, el ácido tiende a llevar el carácter ácido de la proteína a la equipotencia con el básico. El punto isoeléctrico es, pues, aquel grado de acidez en el cual la constante de disociación ácida está equiparada con la básica de la proteína ; en él la solución tiene un carácter lo más neutro posible (ni ácido, ni básico) y por lo tanto corresponde al mínimo de ionización y de carga de la proteína. Este punto varía en los distintos albuminoides y es ligeramente modificado por la presencia de sales y quizás también de no electrólitos. En el punto isoeléctrico, las proteínas presentan el máximo de precipitabilidad por la acción de varios agentes : calor, sales, etc., como se comprende por lo dicho. Por ejemplo : para precipitar pronto y bien por el calor la albúmina disuelta en un líquido (orina), es necesario acidularlo en la cantidad necesaria para alcanzar el punto isoeléctrico de la albúmina, pero sin sobrepasarlo ; esto se obtiene mejor con ácidos de escasa disociabilidad electrolítica o ácidos débiles (ácido acético). El punto isoeléctrico se encuentra en un punto de acidez tanto más alto cuanto más acentuado sea el carácter ácido propio de la proteína.

He aquí algunos datos, según SCHADE (1) :

Punto isoeléctrico del ácido nucleínico (puede considerarse como componente de los porteídos) ..	en $[H^{\cdot}]$ =	$2 \cdot 10^{-1}$
« « de la pepsina	en $[H^{\cdot}]$ =	$5 \cdot 10^{-3}$
« « « « tripsina	en $[H^{\cdot}]$ =	$3 \cdot 10^{-4}$
« « « « seroalbúmina	en $[H^{\cdot}]$ =	$2 \cdot 10^{-5}$
« « « « caseína	en $[H^{\cdot}]$ =	$2{,}5 \cdot 10^{-5}$
« « « « gelatina	en $[H^{\cdot}]$ =	$2{,}5 \cdot 10^{-5}$
« « « « seroglobulina	en $[H^{\cdot}]$ =	$4 \cdot 10^{-6}$
« « « « oxihemoglobina	en $[H^{\cdot}]$ =	$1{,}8 \cdot 10^{-7}$

El punto neutro se halla, como se sabe, próximo a $[H^{\cdot}]=0{,}8 \cdot 10^{-7}$, y la sangre, dicho sea para comparar, tiene un $[H^{\cdot}]=0{,}2 \cdot 10^{-7}$ o también $0{,}4 \cdot 10^{-7}$ (así, pues, un poco desplazado hacia la alcalinidad). Esto significa que en la sangre las seroglobulinas están más próximas al punto isoeléctrico que la seroalbúmina ; noción ésta de importancia para explicar la diversa labilidad de los coloides del plasma.

Si dirigimos ahora nuestra atención a la albúmina ionizada, veremos que al alejarse del punto isoeléctrico se obtienen propiedades un poco divergentes según que se tienda hacia una mayor o menor concentración en $H^{\cdot}$, o sea en sentido de la acidez o de la alcalinidad respectivamente. La proteína ionizada en solución ácida posee una gran tendencia a producir precipitados irreversibles con grandes concentraciones de ácido, mientras que en solución básica, cuando la concentración de álcali es grande, produce precipitados relativamente reversibles (los ácidos fuertemente concentrados tienen mayor tendencia a producir transformaciones en sentido geloide ; las bases, en sentido soloide : son conocidas las escaras duras y secas características de la cauterización ácida de los tejidos y las blandas, más o menos pastosas, de la cauterización con álcalis fuertes).

(1) *Physik. Chem. in d. inner. Med.*, 1923.

Respecto a la acción de las sales, las proteínas en solución ácida notan (por funcionar como cationes) más la influencia del anión ; las proteínas en disolución alcalina (en las que obran como ácido) son más sensibles a la acción del catión. Esto nos lleva a tratar de la *influencia de las sales* sobre el estado coloidal de los albuminoides : empecemos por las *sales de los metales alcalinos (monovalentes)*.

Respecto a los albuminoides en solución neutra (proteínas descargadas) o alcalina (proteínas cargadas negativamente) como comúnmente se encuentran en los líquidos orgánicos, podemos establecer el siguiente principio : la presencia de la sal neutra de un metal monovalente no basta por sí sola para precipitar la proteína, cosa natural tratándose de un emulsoide ; antes bien, *pequeñas cantidades de sales neutras facilitan la disolución de muchas proteínas*, por ejemplo : de las globulinas que no se disuelven en agua destilada (un medio para aislarlas es precisamente la diálisis que aleja las sales solubilizadoras). Parece que en un primer tiempo las sales se fijan sobre los albuminoides por un fenómeno de adsorción, y luego se unen por afinidad química, así, por ejemplo, en el NaCl, el Na se uniría con el grupo carboxílico libre y el Cl con el grupo amínico, constituyéndose verdaderos *compuestos salino-proteicos*. Luego, con altas concentraciones de sal, aparece la acción precipitante *reversible*, que consiste en un proceso de desimbibición de las micelas coloidales imbibidas de agua : los iones salinos atraerían, para hidratarse, el agua que imbibe y mantiene al coloide en solución, y las partículas de éste encontrarían así ocasión de agregarse y flocular.

La acción de los aniones es generalmente disolvente, inhibidora de la precipitación o favorecedora de la imbibición de las partículas del coloide : las de los cationes es precipitante o desimbibidora. El efecto total de las sales (aniones + cationes) resulta de la suma de las acciones de los aniones y de los cationes.

Pero no todos los aniones ni todos los cationes monovalentes tienen una acción igual entre sí, sino que unos y otros están ordenados según dos series semejantes, descubiertas por HOFMEISTER, y llamadas series *liotropas* porque expresan la avidez de cada ion para el disolvente y su aptitud para sustraerlo a las partículas del coloide. El conocimiento de estas series es importante para el biólogo, porque cuando se encuentran comprobadas al estudiar la acción de las sales neutras sobre un proceso biológico, es prueba de que *entran en actividad fenómenos coloidales de imbibición o desimbibición* y pueden excluirse, por ejemplo, los fenómenos osmóticos puros y simples.

La acción precipitante (desimbibente para las proteínas) de los cationes crece según el orden siguiente :

$$NH^{\cdot}_4 < K^{\cdot} < Na^{\cdot} < Li^{\cdot}.$$

La acción opuesta, disolvente (imbibente para las proteínas) disminuye para los cationes en el mismo orden : el $Li^{\cdot}$ es el más precipitante o el menos disolvente, que es lo mismo ; es el catión más apto para sustraer el agua de las micelas coloidales (ion proteico).

La acción disolvente (inhibidora de la precipitación) o imbibente de los aniones (mono y bivalentes) crece según la progresión siguiente : $Fl' < SO_4'' < HPO_4'' <$ Citrato-ion < Acetato-ion < Tartrato-ion $< Cl' < No_3' < ClO_3 < Br' < I' < CNS'$ y por lo tanto en el mismo orden decrece la acción precipitante.

Esto significa que las sales que tendrán la máxima acción disolvente sobre las proteínas serán las formadas por cationes de la izquierda y aniones de la derecha : el fluoruro de litio será muy precipitante y prueba de ello es su acción necrosante sobre las células. Por el contrario, los sulfocianuros amónico o potásico serán solubilizantes ; recordemos que la Naturaleza, previsoramente, ha colocado pequeñas cantidades de sulfocianuro en la saliva, que debe impregnar las substancias del bolo alimenticio y prepararlo para la digestión gástrica, y quizás por contener dicha sal hincha también los albuminoides. Por el contrario en las proteínas en solución ácida, y por lo tanto con carga positiva, los aniones son más precipitantes que los cationes, y las series de Hofmeister se invierten : los yoduros y sulfocianuros, por ejemplo, son los que más precipitan y los fluoruros y sulfatos los menos precipitantes ; el $NH^{\cdot}_4$ precipita más que el $Li^{\cdot}$, etc.

Para nosotros tienen especial importancia las series normales para las proteínas en medio alcalino, las cuales han sido comprobadas experimentalmente en diversos procesos biológicos : el poder hemolítico de las sales de los metales alcalinos crece según la serie normal de los aniones (los yoduros y sulfocianuros hemolizan más que los sulfatos y cloruros) según Hober ; las pestañas vibrátiles de varios epitelios son perjudicadas en sus movimientos por el orden siguiente : ion acético $< SO_4'' <$ tartárico $< HPO_4'' < Cl' < NO_3' < B_2 <$ I' que es reproducción exacta, salvo algunas alteraciones, de la serie antes citada. También la excitabilidad de los nervios periféricos disminuye en este orden : SO_4'' ; Cl' ; B' ; I'.

Los yoduros excitan la partenogénesis artificial más que los bromuros, y éstos más que los cloruros.

Por lo menos una parte de la acción terapéutica de los yoduros puede residir en su aptitud solubilizante o imbibente de estas sales respecto a las proteínas, por lo cual, habiendo transformación en sentido soloide de los coloides orgánicos (también de los patológicos : exudados, masas conjuntivas organizadas) se facilita su contacto con los líquidos circulantes, la penetración o expulsión de diversos cristaloides (productos regresivos) y la participación en los fenómenos metabólicos en el sentido amplio.

Pasando ahora a tratar de las sales con cationes bivalentes, debemos hacer notar que el Mg se comporta de una manera algo distinta de los otros metales de este grupo, que lo hace más semejante a los

monovalentes (tiene escasa acción precipitante : en la serie normal se encontraría antes del NH_4). El Ca y el Ba *tienen generalmente acción precipitante*, desimbibente, dando, sin embargo, un precipitado insoluble *(precipitación irreversible)*. Mientras que las sales de sodio y potasio a baja concentración, como sucede en los líquidos orgánicos, tienen acción distendente y disolvente, las sales de Ca tienen *siempre* acción precipitante *(antiónquica,* como dice Schade, queriendo significar así que es una acción que se opone a la imbibición de los biocoloides, una acción desimbibente o coagulante). Los aniones de estas sales de Ca o Ba actúan según la serie liotropa invertida (la de las proteinas en medio ácido).

Hagamos resaltar este *antagonismo físico-químico entre* Na *y* K *por un lado y* Ca *por otro*. Más adelante veremos sus importantes aplicaciones biológicas.

Finalmente debemos ocuparnos de la acción precipitante de las sales de los metales pesados. Estos precipitan las proteínas, aun añadiéndolos en concentraciones mínimas, y es interesante el hecho de que se forman compuestos entre el metal y el albuminoide que, como demostró hace muchos años Galeotti (1), son compuestos reversibles que obedecen a las leyes del equilibrio químico. Por lo tanto el metal (catión) tiene la mayor importancia, mientras que el anión es indiferente o poco menos. El metal se encuentra en proporción notable en el precipitado, quizás *porque se une con la proteína* (probablemente por un verdadero proceso de adsorción). Las leyes precisas de este fenómeno no son del todo conocidas. Es un hecho que la cantidad de precipitado crece con el aumento de la concentración de la sal metálica añadida a la solución de albuminoide y que para todos los metales pesados, si se continúa la adición de sal, el precipitado vuelve a disolverse (Handowsky cree que las partículas proteicas, cargadas negativamente — generalmente se trata de soluciones alcalinas — son descargadas al principio por los cationes de la sal, pero recargadas después positivamente por los mismos cationes, de donde vendría la redisolución). Añadiendo aún más sal, se encuentran para algunos metales (Fe, Zn, Pb, Ur) *una nueva zona de precipitación ;* con otros (Cu, Hg, Ag) no sucede esto.

La acción de los metales pesados sobre el protoplasma viviente, ha sido estudiada desde distintos puntos de vista : uno de los preferidos es el de la acción desinfectante de las sales de metales, esto es, la acción de éstos sobre las bacterias. No podemos hacer aquí más que citar las investigaciones clásicas de Paul y Krönig (2), Spiro y Scheuerlen (3), de las cuales se desprende que la fuerza desinfectante está en relación con el grado de disociación de la sal disuelta y es paralela a la concentración del ion metálico ; investigaciones con-

(1) *Zeitschr. f. phys. Chem.*, vol. XL y X II, 1904.
(2) *Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr.*, vol. XXV, I, 1897 ; *Z. für phys. Chem.*, vol. XXI, 1896.
(3) *Münchn. med. Woch.*, 1897.

tinuadas después por otros (por OTTOLENGHI en Italia) y completadas especialmente por MORAWITZ (1) con la demostración de que la acción del $HgCl_2$ se verifica siguiendo la isoterma de los fenómenos de adsorción, es decir, que en realidad no hay una proporcionalidad absoluta entre la concentración iónica y la acción desinfectante, sino que esta acción crece con menos rapidez que la concentración del ion mercúrico.

El mismo principio, o sea que en la acción de las sales de metales pesados sobre los organismos, es la disociación iónica la que influye y el ion metal el que reacciona con el protoplasma, lo encontramos aplicable al estudio de la toxicidad de los metales pesados sobre las células animales. Los trabajos de SABBATANI (2) han demostrado de una vez que la acción tóxica del nitrato de Ag y del $HgCl_2$ en el conejo está en relación con el grado de disociación iónica, y que también lo que aquí reacciona no es la molécula de la sal, sino el ion metálico. También los recientes trabajos de SALANT y KLEITMAN (3), que han encontrado que diversas sales de Hg poseen acciones diferentes sobre el corazón aislado de la rana, deben interpretarse según MENEGHETTI (4) por medio de la diversa disociabilidad de las sales.

Una cuestión muy estudiada, por ser de técnica sencilla, es la *hemolisis* producida por las sales metálicas, por los metales pesados en estado coloidal y en estado de polvo metálico. No podemos hacer sino citar los trabajos más antiguos de ASCOLI M. y NOVELLO (5), de PRETI (6) referentes al plomo de IZAR (7) y los más recientes de A. FEDELI (8); en general, se da importancia a la concentración iónica y al ion metálico libre en el líquido de suspensión, incluso para los metales en polvo. MENEGHTTI (9) y casi contemporáneamente con él BECHHOLD (10), han estudiado la acción hemolítica del sublimado y, por lo tanto, su toxicidad para los glóbulos rojos en trabajos extremadamente minuciosos que nos creemos en el deber de citar. Pero, mientras ciertos datos experimentales concuerdan, y así, tanto MENEGHETTI como BECHHOLD, confirman que las grandes concentraciones de $HgCl_2$ coagulan el protoplasma (fijación), mientras que las pequeñas concentraciones liberan la hemoglobina, o sea, que tienen acción hemolítica, las interpretaciones respectivas no coinciden por completo. Para BECHHOLD, las grandes concentraciones obrarían coagulando las proteínas globulares, y el que actuaría sería el ion metálico ; las concentraciones bajas hemolizarían en virtud de una función molecular y no iónica, y la acción de la molécula salina tendría su punto de ataque en los lipoides globulares ; para MENEGHETTI, por el contrario, sería siempre el ion metálico el que según su concentración tendría acción coagulante (reversible) o disolvente.

(1) *Kolloidchem. Beihefte.* vol. I, 1910.
(2) *Arch. Antrop. crimin., Pisich. e Med. leg.*, vol. XXV. 1904 ; *Arch. di Fisiol.*, vol. III, 1905.
(3) *Scient. Proc. of Amer. Soc. f. Pharmac. a. exper. Ther.*, XII Ann. Meet., Chicago, 1920.
(4) *Bioch. Zeitschr.*, vol. CXXXI, 1922.
(5) *Compt. rend. Soc. de Biol.*, vol. LXIV y LXV, 1908.
(6) *Id.*, vol. LXV.
(7) *Z. f. Immunitätsf.*, vol. II, 1909.
(8) *Arch. farmacol.*, vol. XXII, 1916.
(9) Loc. cit.
(10) *Arb. a. d. Inst. f. exper. Ther.* Frankfurt a. M., fasc. II, 1922.

MENEGHETTI (1), al que debemos un extenso estudio de la hemolisis por las sales de metales pesados distintas del $HgCl_2$, afirma que las sales metálicas (Zn, Cd, Fe, Ca, Ni, Pb, Cu, Hg, Ag, Pd, Pt, Au) obran sobre los hematíes por medio de su catión. Así, pues, los diferentes metales se diferenciarían por la acción hemotóxica que estaría en relación con su tensión de solución, y precisamente serían tanto más activos cuanto más baja fuese su tensión de solucion. Estos resultados son comparables con los más antiguos de MATHEWS (2) sobre la toxicidad de las sales metálicas para el huevo de *Fundulus* (un pequeño teleósteo).

Parece, pues, en resumen, que en la acción de las sales metálicas (refiriéndonos siempre especialmente a los metales pesados) sobre la substancia viviente, influye mucho la disociación electrolítica de la sal y, por lo tanto, la liberación de cationes, y que, en segundo lugar, para los diversos metales tiene importancia su tendencia a pasar del estado metálico al estado iónico, medida por la diferencia de potencial que se establece por el contacto entre un electrodo metálico y la solución salina (tensión de solución, máxima para los metales menos nobles y menos tóxicos, y mínima para los metales más nobles y también más tóxicos). Esta segunda ley (de la cual actualmente ignoramos toda la extensión y no sabemos si tiene influencia general : véase también página 25), se explica por el hecho de que los metales actúan sobre el estado coloidal del protoplasma en el cual producen generalmente modificaciones de la dispersión y del estado de imbibición. Se ha demostrado que para metales de igual valencia, su acción floculante es inversamente proporcional a la tensión de solución o tendencia a pasar o permanecer en estado iónico. Los metales más tóxicos son, pues, aquellos que tienen menor tensión de solución (la cual está expresada en la serie electroquímica), es decir, aquellos que tienen menos tendencia a permanecer en estado iónico, o sea, que tienen más tendencia a ceder su carga (depositándose en el cátodo como metal), que es la que obra sobre los coloides (según SCHADE, la carga eléctrica tiende a coagular los coloides de signo contrario y a fluidificar los que poseen carga de igual signo). Hagamos notar que la serie electroquímica se repite también estudiando otras varias acciones fisiológicas de los metales, por ejemplo, la acción sobre el sentido del gusto, según HERLITZKA (3).

Quizás sea ventajoso recordar aquí la *acción oligodinámica :* muchos metales (Cu, Au, Ag, etc.) empleados en cantidades mínimas, pueden

(1) *Arch. Scienze biol.*, vol. II, 1921.
(2) *Amer. Journ. f. Physiol.*, vol. XI-XIV, 1901-1905.
(3) *Arch. di Fisiol.*, vol. VII, 1909.

ejercer acciones tóxicas notables y con caracteres especiales sobre células aisladas (bacterias, hematíes, algas, protozoos, etc.). Así, el agua destilada, por simple permanencia en recipientes de cobre, puede adquirir acción tóxica para las bacterias o algas; discos de varios metales, por ejemplo de Ag, colocados sobre placas de agar inhiben en un cierto radio a su alrededor, el desarrollo de las colonias bacterianas (BECHHOLD). Según una revista crítica completa debida a SABBATANI (1), no se trata de acciones misteriosas propias de cantidades mínimas del metal, sino de la acción iónica común, que es posible gracias a una cierta solubilidad del metal y a la sensibilidad de ciertas células. Por el contrario, K. HERZBERG (2) da importancia a una condensación de oxígeno sobre los iones metálicos: la acción oligodinámica sería, según él, una oxidación enérgica, diferenciable de la acción iónica ordinaria.

Además de estos procesos de precipitación de las proteínas, debidos a los electrólitos (ácidos, bases y sales), son muy importantes los ocasionados por el alcohol y otros cuerpos dotados de la notable facultad de disminuir la tensión superficial del agua en que están disueltos, por lo cual tienen tendencia a concentrarse en la superficie de las partículas proteicas y, dada su pequeña constante eléctrica, a descargarlas y, como consecuencia, a hacerlas flocular (véase también Parte II, a propósito de la narcosis). La precipitación o coagulación con alcohol es reversible al principio, pero luego se hace irreversible.

Tenemos también para todas las proteínas, a excepción de las protaminas y (hasta cierto punto) de las histonas, la precipitación por el calor: el albuminoide en solución es desnaturalizado, primero por el calor y después precipitado por los electrólitos que lo acompañan. En otros términos, el calor obra transformando casi el emulsoide en suspensoide, y éste es precipitado después por los electrólitos presentes en pequeña cantidad. La precipitación térmica se verifica de preferencia cuando la reacción coincide con el punto isoeléctrico de la proteína; efectivamente, en estas circunstancias (véase pág. 119), es cuando hay más partículas proteicas descargadas, cuando se está más próximo a las condiciones del suspensoide y, por lo tanto, cuando la proteína tiene el mínimum de estabilidad.

La coagulación o precipitación térmica se verifica a temperaturas diversas según los distintos albuminoides. En otro tiempo se daba un gran valor a este *punto de coagulación* de cada proteína, pero se ha visto que depende mucho de la concentración de la solución proteica, de la duración y rapidez con que se calienta y de la mayor o menor cantidad de electrólitos presentes (una cierta proporción de sales eleva el punto de coagulación); quizás también depende de la presencia de no electrólitos, por todo lo cual este dato ha perdido importancia, y para caracterizar las proteínas se acostumbra a sustituir por la determinación del punto isoeléctrico.

(1) *Arch. Scienze biol.*, vol. II, n.° 1-2, 1921.
(2) *Centralbl. f. Bakter. Orig.*, vol. XC, 1923.

Cuando se calientan soluciones de albuminoides, éstos pueden experimentar también modificaciones químicas; así, por ejemplo, pueden perder S en forma de H_2S.

Adviértase que las proteínas en estado seco son mucho menos desnaturalizadas por el calor que las proteínas disueltas.

Los albuminoides en solución, hasta por la simple conservación de sus soluciones, acaban por desnaturalizarse y, dada la presencia casi constante de electrólitos, por precipitar. En realidad, el calor no hace más que acelerar este proceso, que pertenece a los fenómenos de histéresis de los coloides y explica la alteración de los sueros, vacunas y productos similares. La luz (rayos ultravioleta) tiene, como el calor, acción acelerante sobre estos fenómenos de desnaturalización. Entre los factores capaces de provocar el paso de un sol proteico al estado de gel, tenemos el batido; así se explican, como efectos de una disminución de la dispersión de ciertas seroproteínas (globulinas), los fenómenos de inactivación del complemento y de reducción del contenido en anticuerpos de un suero cuando se bate durante largo tiempo, y a igual causa se atribuye la inactivación de los fermentos por el batido prolongado (véase sobre este asunto, SPADOLINI) (1).

Podemos citar también como coagulantes de las proteínas, los llamados *reactivos generales de los alcaloides:* ácido tánico, ácido fosfomolíbdico, ácido fosfotúngstico, ácido pícrico, ácido tricloracético, etc.

Finalmente existen coloides capaces de precipitar las proteínas. El hidrato coloidal de hierro, por ejemplo, sirve para desalbuminar completamente el suero de la sangre porque, como coloide positivo, precipita las proteínas contenidas en el suero (levemente alcalino) que tienen carga negativa. El kaolín (suspensoide negativo) también puede precipitar las proteínas del suero con tal de que éstas sean transformadas en positivas por medio de la acidificación. El ácido nucleínico también precipita los albuminoides. Pero esta precipitación por medio de coloides no depende exclusivamente de la carga eléctrica.

Debemos añadir que las proteínas, como emulsoides, son coloides protectivos excelentes respecto a la precipitación de los suspensoides por la acción de los electrólitos. Existen reacciones biológicas importantes fundadas en poner de manifiesto la acción protectiva de los albuminoides orgánicos (por ejemplo, de las proteínas del líquido cerebro-espinal) respecto a soles coloidales inorgánicos (sol de oro, de benjuí, etc.). Las proteínas (por ejemplo del plasma sanguíneo) pueden proteger también a un cristaloide contra la precipitación de su disolución sobresaturada: ya es sabido que el suero de la sangre puede contener mucho más ácido úrico que el que se disuelve en un volumen igual de agua.

También tienen gran importancia en Biología los fenómenos llamados de *precipitación rítmica*, como los de LEISEGANG (2) estudiados

(1) *Arch. di Fisiol.*, vol. XII y XIII, 1914-1915.
(2) *Zeitschr. f. physik. Chemie*, vol. LXXXVII y LXXXVIII.

y completados por BECHHOLD y recientemente por KOHLER (1) y sobre todo desde el punto de vista fisiopatológico por ASCHOFF (2). Si se pone una gota de nitrato de plata sobre una placa de gelatina con bicromato amónico, se forman en ésta varios anillos pardo rojizos concéntricos alrededor de la gota, producidos por precipitaciones sucesivas y distanciadas de bicromato de plata. Sin entrar en la explicación del fenómeno, para la cual se ha aceptado la teoría de las soluciones metastables de OSTWALD y otras opiniones posteriormente expuestas (véase KÖHLER), diremos que este *fenómeno de la precipitación en capas de sal, que se forman en medios coloidales* puede aclarar la génesis de las concreciones estratificadas de varias clases en líquidos orgánicos más o menos ricos en coloides. Así puede suceder en los cálculos biliares o urinarios de estratificación concéntrica clara; en ciertos «cuerpos amiláceos» de la próstata, en los pulmones, en los plexos coroides, etc.

En *estado de gel* las proteínas son capaces de impregnarse notablemente de agua e hincharse luego. La imbibición de los gels coloidales (conjuntivo) desempeña un papel importante en la regulación de la economía hídrica del organismo. Los gels proteicos aumentan mucho su imbibición en presencia de ácidos y del álcalis, mientras que las sales neutras tienen a menudo acción desimbibente.

Ciertos cristaloides no electrólitos (azúcares, urea) tienen una acción variable según sean los substratos proteicos que consideremos: la urea acostumbra a aumentar la permeabilidad de muchos gels para varios cristaloides. La difusión de los cristaloides en el gel se hace, por lo regular, con más dificultad que en el sol, así como, según dice HEUBNER, le es más difícil a una persona atravesar una multitud en la cual hay agrupaciones de personas paradas, que no otra multitud en movimiento continuo y uniforme en todo su espesor. Por lo demás, los soles y gels proteicos obedecen a las mismas leyes: también en el gel las moléculas proteicas están más o menos ionizadas y el estado de ionización influye sobre su capacidad para fijar agua. La gelatina sólida se hincha muy poco si la reacción coincide con el punto isoeléctrico (ligera acidez); la imbibición crece al alejarse del pH del punto isoeléctrico en ambos sentidos: hacia la reacción más ácida, o hacia la neutra y alcalina.

Todas *las reacciones de precipitación utilizables analíticamente* son aplicaciones de las propiedades coloidales que acabamos de exponer.

Transcribamos las principales, a modo de resumen, en el siguiente esquema:

(1) *Kolloid-Zeitschr.*, vol. XIX, fasc. 2.
(2) *Ric. di Biol.* dedicadas a. Prof. LUSTIG, Florencia, 1915.

REACCIONES DE PRECIPITACIÓN DE LAS PROTEÍNAS

Precipitaciones reversibles (precipitados solubles en agua).	Por medio de alcohol (reversible sólo al principio). Por medio de solución concentrada de sales neutras: Na_2SO_4, $MgSO_4$, $(NH_4)_2SO_4$ (llamada también *salazón*).
Precipitaciones irreversibles (precipitados insolubles en agua).	Con coloides distintos: mástic, hidrato coloidal de Fe, kaolín, etc. Por el calor (en presencia de electrólitos — y con un pH = punto isoeléctrico). Por medio de sales de metales pesados (por ejemplo, $HgCl_2$, $CuSO_4$, etc,). Con ácidos minerales fuertes (desnaturalización marcada; el exceso de ácido redisuelve el precipitado, excepto en el caso del HNO_3, que por esto se emplea en la prueba de HELLER en la orina). Por medio de *reactivos de los alcaloides* (ácidos fosfotúngstico, tánico, tricloroacético, etc.).

Debemos añadir algunas palabras sobre las *acidalbúminas* y *alcalialbúminas (metaproteínas* de algunos autores), que muchos consideran como productos iniciales de la desintegración proteica. Las *acidalbúminas* se forman por la acción de ácidos débiles y las *alcalialbúminas* por acción de álcalis débiles (por ejemplo NaOH al 0,2 %); el calor acelera su aparición.

Tanto las acidalbúminas como las alcalialbúminas son insolubles en el agua, pero las primeras son solubles en los ácidos y las segundas en los álcalis, y disueltas en esta forma, *ni unas ni otras son precipitables ya por el calor.* Si se acidifica demasiado una solución de proteína en la cual se quiera precipitar la albúmina por el calor, ésta no se separa, precisamente porque se ha transformado en acidalbúmina. En la formación de la alcalialbúmina parece que hay una alteración molecular más considerable que al producirse la acidalbúmina, porque se libera NH_3 y frecuentemente S.

También podemos dar una breve idea acerca de las *proteínas cristalizables.* Aunque las proteínas sean coloides, también se conocen proteínas cristalizadas o cristalizables pertenecientes a los reinos vegetal (cristales de aleurona en las semillas) y animal (cristales de oxihemoglobina, de ovoalbúmina y seroalbúmina). Se pueden hacer cristalizar fácilmente las albúminas (para las globulinas todavía no se ha conseguido) por precipitación con sulfato amónico saturado, en medio débilmente ácido. No se trata, sin embargo, de cristales propiamente dichos, sino de formaciones coloidales, pues son capaces de impregnarse más o menos y contienen impurezas.

c) ALBUMOSAS, PEPTONAS Y OTROS PRODUCTOS INTERMEDIARIOS DE DESINTEGRACIÓN.

Se han definido comúnmente con el nombre de albumosas (o proteosas) y de peptonas, una serie de derivados proteicos, considerados como productos de desintegración incompleta y por lo tanto de

molécula bastante grande aun, intermediarios entre las proteínas y los aminoácidos o productos terminales de la escisión de los albuminoides. Las albumosas serían los primeros productos de degradación (prescindiendo de las acidalbúminas y alcalialbúminas), más complejas que las peptonas, que serían términos consecutivos de molécula más pequeña. Las albumosas estarían caracterizadas por dar, como las proteínas, la reacción del biuret, pero no precipitan por el calor : habrían, pues, perdido las propiedades eminentemente coloidales de las proteínas, aunque conservarían ciertas agrupaciones atómicas características. Tampoco las peptonas coagulan por el calor y dan siempre la reacción del biuret, pero pueden distinguirse de las albumosas, según KÜHNE, porque no precipitan al saturar sus disoluciones con sulfato amónico, que por el contrario precipita las albumosas. En un líquido, pues, que contenga proteínas, albumosas y peptonas se coagularán *sólo* las proteínas si tiene una reacción adecuada y se somete a la acción del calor ; filtrando, se obtendrá una disolución de albumosas y peptonas ; si el filtrado se satura en caliente con sulfato amónico, se precipitan las albumosas y, volviendo a filtrar, se recoge un líquido en el que sólo hay peptonas, las cuales pueden precipitarse con alcohol o con tanino acético (filtrando de nuevo, tendremos en el filtrado los aminoácidos). Podremos trazar, por lo tanto, el siguiente esquema de una desintegración proteica (por la acción de enzimas, ácidos, etc.) :

Proteínas..... (coagulables por el calor) ;

Albumosas ... } (incoagulables, siempre *biurética*) { precipitables con sulfato de NH_4 a saturación : albumosas :

Peptonas..... } (incoagulables, siempre *biurética*) { no precipitables son sulfato de NH_4 a saturación, sino con alcohol, tanino, etc. : peptonas.

Aminoácidos . (incoagulables y *abiuréticas)*.

La Química fisiológica clásica distinguía varias subcategorías de albumosas y de peptonas, que se afanaba en separar por diversos procedimientos.

Actualmente se sabe que estas distinciones son, en su mayor parte, artificiales e imprecisas : las proteínas se dividen simplemente en polipéptidos de cadena más o menos larga, y lo que se llaman albumosas y peptonas no son más que mezclas de polipéptidos variadísimos. Cierto es que se han diferenciado algunas individualidades químicas relativamente distintas : así sucede con las *quirinas de* SIEGFRIED y también con ciertos complejos de aminoácidos particularmente resistentes a la digestión trípsica *(antipeptonas)*, etc., pero ya no puede sostenerse la existencia de unidades químicas bien definidas y constantes, como se creía que eran las albumosas y peptonas. Todo lo más —dicen algunos, como OPPENHEIMER — puede conservarse el término « peptona » para expresar en un acto fisiológico bien definido (la digestión gástrica, por ejemplo), el conjunto de productos de escisión de los albuminoides alimenticios, que se forman en el estómago por efecto de la pepsina y del HCl, que pasan después al duodeno para experimentar las sucesivas desintegraciones.

Es cierto también, que en la desintegración enzimática (por ejemplo, por la acción de la tripsina) ciertos aminoácidos (como la tirosina) se separan primero como si formasen parte de polipéptidos más atacables, más expuestos, más lábilmente unidos en el compuesto molecular, y otros (como la glicocola) permanecen más tiempo, tenazmente unidos al complejo, de la cadena de aminoácidos.

Son también productos de desintegración de las proteínas los *ácidos oxiproteínicos*, encontrados en la orina (en la cual aumentan en el curso de las caquexias, por ejemplo cancerosas). Se trata de polipéptidos ricos en S, que contienen cistina, glicocola, arginina, pero nunca tirosina.

En los extractos de carne se encuentran el *ácido cárnico*, que es también parecido a las peptonas y a los péptidos, y contiene lisina, arginina y leucina ; da la reacción del biuret.

d) TEORÍA DE HERZFELD Y KLINGER.

Acerca de la estructura de las proteínas y sobre la concepción de las reacciones inmunitarias como problemas de química de las proteínas, tenemos en estos últimos años una serie de trabajos e hipótesis de HERZFELD y KLINGER (1), que han provocado muchas discusiones. Citaremos aquí lo referente a la cuestión de la estructura de los albuminoides.

Según estos autores, las substancias proteicas no están compuestas por moléculas claramente definidas en cuanto a las dimensiones : son moléculas complejas y variables, constituídas por unidades inferiores, repetidas más o menos veces en la misma molécula. Cada unidad está, según generalmente se admite, representada por cadenas de aminoácidos unidos, siguiendo el esquema llamado « de punto de espinilla ». Pero estas cadenas han de ser específicas en cuanto al número y calidad de los aminoácidos para cada albuminoide (especificidad de órgano y zoológica). Dichas cadenas no pueden crecer por los extremos, fijando nuevos aminoácidos con los grupos amínicos y carboxílicos libres, porque en tal caso no habría ninguna posibilidad selectiva respecto a los nuevos aminoácidos admitidos a formar parte de la molécula y ésta perdería forzosamente su carácter específico, mientras que vemos por los resultados de los estudios inmunitarios que las proteínas

(1) *Bioch. Zeitschr.*, vol. LXXXIII, LXXXV, LXXXVII, XCIX ; y : « Ergebnisse d. Hyg. Bakt. Immunitätsforsch. » de WEICHARDT, vol. IV, 1920.

de cada organismo tienen una clara especificidad y hasta entre organismos diversos de la misma especie son posibles diversidades íntimas de estructura bioquímica (producción de isoanticuerpos ; dificultad de implantación de los injertos no sólo heteroplásticos sino también homoplásticos en comparación como los autoplásticos, etc.). Si al crecer y complicarse la molécula proteica mantiene siempre su plan fundamental de estructura, los encadenamientos elementales de aminoácidos deben reproducirse siempre iguales, o sea, que las nuevas unidades estructurales deben mantenerse siempre iguales a las precedentes. Herzfeld y Klinger consideran pues, que la unidad, la simple cadena específica de aminoácidos, está extendida en superficie, está, por ejemplo, arrollada sobre sí misma en un solo plano, no como un ovillo sino como un muelle de reloj, con dos superficies o caras iguales, e imaginan que, dada la primera de estas unidades o *discos elementales*, puede formarse otra sobre cualquiera de las dos superficies por yuxtaposición de nuevos aminoácidos, luego otra sobre la que ha resultado, y así sucesivamente hasta constituir *cilindros* o *rollos* de discos elementales, la verdadera molécula compleja viviente. Pero ¿por qué cada nuevo disco (o cadena de aminoácidos arrollada en un plano) tiene la misma composición exactamente que el anterior? Cada uno de los aminoácidos de la cadena está unido al anterior, como se sabe, por los grupos COOH y NH_2, con eliminación de agua (unión característica de los péptidos : HN·CO), o sea, por medio de valencias principales ; pero los átomos de C, y especialmente los de N y de O, tienen valencias secundarias o accesorias, que son las que frecuentamente intervienen en varios procesos físico-químicos y no puramente químicos, que explican la afinidad entre el disolvente y el cuerpo disuelto (ciertos fenómenos de adsorción electiva) y sobre todo tienen importancia para explicar los llamados *compuestos moleculares* (en el sentido de Werner). Son las valencias accesorias de los aminoácidos de la cadena ya formada las que atraen nuevos aminoácidos haciendo que cada uno se deposite sobre su homónimo de la cadena. Así, sobre una molécula de alanina, unida por un lado con una de tirosina y por otro con una de glicocola, se deposita, en virtud de las valencias accesorias, una molécula de alanina ; sobre la de tirosina, otra de tirosina, y sobre la de glicocola, otra de glicocola. Efectivamente, según Herzfeld y Klinger, muchos hechos inducirían a creer que cada molécula de aminoácido atrae otra molécula del mismo aminoácido, igual que en una mezcla de sales cada molécula encuentra a su homóloga y se forman distintos cristales de cada una de las sales. Una molécula es cubierta en cierto modo por otra molécula igual, que encaja en ella, porque las dos saturan así completamente sus valencias accesorias. De este modo sobre un disco elemental se reproduce otro igual de aminoácidos ordenados igualmente, que no tienen más que hacer sino unirse uno con otro según las valencias principales de sus grupos amínicos y carboxílicos. Así la molécula proteica de dimensiones distintas, según su estado funcional, tiene siempre indefectiblemente una estructura elemental constante (igual cantidad e igual proporción de cada uno de los aminoácidos).

Los aminoácidos precipitan, pues, sobre la unidad o disco elemental preexistente, colocándose cada uno en el sitio en cierto modo predestinado por la posición de su semejante en la agrupación molecular. Estos aminoácidos estarían disueltos en los líquidos orgánicos alcalinos en forma de sales alcalinas (R·COONa) ; el CO_2 producido por la respiración celular separaría el metal alcalino (formación de $NaHCO_3$) y entonces el aminoácido, mucho menos soluble, precipitaría : he aquí la síntesis de un albuminoide concebida como precipitación directa de los aminoácidos, regulada por las afinidades secundarias entre las moléculas de un mismo aminoácido, y completada después por la sólida unión química, mediante el enlace carboamínico, de los ácidos depositados.

Así se formarían los llamados cilindros de discos elementales, más cortos en las proteínas más dispersas de los líquidos circulantes, más largos y quizás diversamente enlazados en las que forman la trama celular. Pero estos cilindros bastante compactos formarían el núcleo de la molécula proteica, la cual estaría circundada por fragmentos mayores o menores, hasta aminoácidos aislados, que tendrían un gran valor en el mantenimiento de la estabilidad del sol coloidal de que está formado el protoplasma, y especialmente del sol que representan los líquidos orgánicos. Estos fragmentos o productos desintegrativos (*Abbauprodukte* de los alemanes) tienen efectivamente una verdadera función solubilizadora para las proteínas, fundada en las consideraciones siguientes, que representan para nosotros una recapitulación de cuanto se ha dicho sobre las propiedades coloidales de los albuminoides. La solución de un cuerpo sólo es posible cuando existe una afinidad cualquiera entre el cuerpo disuelto y el disolvente (afinidad por las valencias accesorias) y de la misma manera sólo es posible una suspensión de partículas plurimoleculares (coloides más o menos dispersos) si existen afinidades por las cuales el disolvente, generalmente el agua, se une más o menos con la superficie de las partículas dichas. En los coloides son las substancias que se encuentran en la superficie de las partículas las que, siendo más o menos solubles o hidroafines, proporcionan la estabilidad de estas pseudo-soluciones coloidales o suspensiones. Cada partícula debe tener a su alrededor como una esfera de agua débilmente unida a los componentes de la superficie de la partícula misma, para permanecer suspendida y no precipitar junto con sus iguales por atracción recíproca de las masas. Dicha corona de agua obra en cierto modo de aislante, y las substancias de la superficie de la partícula que la mantienen se llaman « mediadores de solubilidad ». En la superficie de las partículas proteicas existen los llamados *productos desintegrativos*, especialmente los más avanzados, los aminoácidos (en forma de sales alcalinas) y ciertos polipéptidos que obran como mediadores de solubilidad o *estabilizadores*, que es como nos parece que debieran llamarse. Pasa aquí lo mismo que en la super-

ficie de las gotitas de grasa emulsionadas, en la que existen los jabones que allí se forman (cuando la fase acuosa contiene álcali), notables precisamente por su aptitud para favorecer la emulsión y actuar de estabilizadores.

Según esta opinión, el núcleo cilindriforme de una molécula proteica es sólido o por lo menos pobre en agua, y la proteína se insolubiliza cuando se ve privada de los fragmentos moleculares estabilizadores, en cuyo momento precipita igual que una suspensión de materias no hidroafines, de kaolín por ejemplo. Pero en la superficie del núcleo sólido existe un gran número de estos fragmentos o productos desintegrativos, que establecen con el agua las relaciones necesarias para mantenerlo en solución, y podemos suponer que el núcleo proteico tiene unidos estos productos desintegrativos solubilizantes, o mejor estabilizadores, en virtud de fenómenos de adsorción.

Cuanto más pequeños y desintegrados son estos productos desintegrativos periféricos, adsorbidos por las partículas proteicas, tanto mayor es su acción solubilizante, tanto más estable es la (así llamada) solución proteica. La estabilidad depende también de las dimensiones del núcleo sólido central o de la relación entre estas dimensiones y el número y clase de los productos desintegrativos periféricos. Así, las partículas voluminosas tienen relativamente más necesidad de productos solubilizadores más grandes o más desintegrados que las partículas más pequeñas, de mayor superficie respecto a su masa. Los productos desintegrativos son tanto más solubles, y por lo tanto, más aptos para solubilizar la suspensión proteica, cuanto más avanzados se encuentran en su desintegración, porque la unión carboamínica HN·CO casi no tiene ninguna afinidad para el agua, mientras que los grupos COOH y NH_2 que resultan de la escisión hidrolítica de aquella unión, retienen el agua relativamente bien ; estos productos de escisión son todavía más solubles si los grupos citados están formando sales, por ejemplo el grupo COOH en forma de COO·Na o el grupo NH_2 en forma de NH_2·HCl (como en la acidalbúmina, bien soluble en efecto) o como NH_2·NaCl. La coagulación de las proteínas por la ebullición en líquido neutro sería debida a que, con el calor, la superficie proteica se limpiaría de los aminoácidos y polipéptidos, y las partículas, privadas de estabilizadores, habrían de juntarse y precipitar. No habría una modificación química profunda : el núcleo fundamental permanecería idéntico y sólo se separarían las partes solubles y solubilizantes de las insolubles en el líquido.

También el alcohol precipita las proteínas porque extrae de la superficie de éstas los productos de desintegración más bajos.

Los metales pesados precipitarían por ingresar en los gupos COONa, etcétera, de los productos desintegrativos, por lo tanto sustituyendo a los metales alcalinos y formando así compuestos insolubles incapaces de fijar la esfera acuosa alrededor de las partículas suspendidas. Las mismas sales hidroafines, como sulfato de NH_4, precipitarían extrayendo simplemente agua, sin comprometer la aureola de productos desintegrativos, de tal manera que el precipitado vuelve a disolverse en el agua; pero si la salazón y redisolución se repiten varias veces, acaban por separarse gran parte de los productos estabilizadores y el precipitado ya no se redisuelve tan completamente.

La diálisis obra de una manera semejante : separa muchos de los productos solubles periféricos y las partículas proteicas más grandes (globulinas) sedimentan; las más pequeñas (albúminas del suero) permanecen en suspensión porque por la pequeñez de la masa en relación con la superficie tienen necesidad de pocas substancias solubilizantes. Ciertas globulinas precipitan también por ligera acidificación (por ejemplo, HCl n/300) porque el ácido separa el metal alcalino del grupo COONa y lo convierte en un carboxílico ordinario, menos soluble.

Finalmente Herzfeld y Klinger (1) hablan de una « desnaturalización mecánica » de las proteínas, que consiste en el hecho de que si se pulverizan mecánicamente extractos proteicos desecados, se vuelven mucho menos solubles que la misma albúmina desecada y redisuelta sin pulverizarla. Explican las modificaciones de la solubilidad por la creación, mediante la acción mecánica, de nuevas superficies desprovistas de aquellos productos desintegrativos solubilizadores que, según estos autores, tanta importancia tienen para fijar agua alrededor de las partículas coloidales y determinan la posibilidad y la estabilidad del estado de solución coloidal.

En resumen, *las substancias proteicas son solubles, o sea coloidalmente dispersas y estables en tal estado, en proporción con la aptitud que poseen las superficies del sistema disperso para fijar agua ; y esta fijación depende de la presencia de productos desintegrativos más o menos solubles sobre dichas superficies. Debe existir cierta relación favorable entre la masa de las partículas coloidales y la cantidad (y calidad) de los productos estabilizantes.*

Si, como en los procesos de precipitación específica, se constituyen agregados de partículas proteicas de masa considerable, sin un aumento de los productos desintegrativos en su superficie, se obtendrá la precipitación. La mismo pasará siempre que, manteniendo constante la masa, se separen o se modifiquen en su solubilidad dichos productos desintegrativos.

Las albumosas, según Herzfeld y Klinger, serían fragmentos grandes de la molécula proteica que aún conservarían cierto grado de especificidad, pero lo suficientemente pequeños para ser mantenidos en solución con pocos productos desintegrativos superficiales y por los pocos que quedan después de la ebullición.

Según este modo de ver, los albuminoides de un mismo órgano o del plasma sanguíneo, considerados generalmente como individualidades químicas diversas separables por precipitaciones fraccionadas, etc., no estarían diferenciados químicamente en el sentido de poseer encadenamientos y especies distintas de aminoácidos, sino que

(1) *Bioch. Zeitschr.*, vol. LXXVIII, fasc. 5 y 6, 1917.

generalmente no serían más que grados diferentes de desintegración o períodos diversos de formación y descomposición y, según la concepción esquemática de HERZFELD y KLINGER, cilindros más o menos largos de discos elementales. Así las proteínas del plasma sanguíneo se diferenciarían principalmente por su diverso estado coloidal, siendo el fibrinógeno, la globulina y la albúmina una misma proteína cada vez más degradada, con partículas cada vez más pequeñas y por lo tanto con una dispersión mayor. Esta teoría eminentemente coloidal de la composición proteica del plasma, está en oposición con la químico-estructural corriente, que los recientísimos trabajos de DOERR vuelven a apoyar (véase Plasma sanguíneo).

En las células, según estos autores, en donde el ambiente es pobre en agua y limitado por membranas, tendrían lugar los fenómenos sintéticos, la superposición ya descrita sobre un plano preformado de nuevos aminoácidos. En la sangre, rica en agua, y en cierto modo comunicando con el exterior por medio de los emunctorios, se desarrollarían solamente fenómenos desintegrativos, disgregándose continuamente las moléculas o fragmentos de moléculas procedentes del desgaste de los tejidos. La sangre sería, pues, rica en productos de desintegración, los cuales, según una teoría sobre la cual los mismos HERZFELD y KLINGER no están de acuerdo, obrarían a su vez activando nuevas divisiones, porque, adsorbiéndose sobre moléculas grandes y atrayendo el agua para la que tienen afinidad, facilitarían los procesos de hidrólisis : los mismos fermentos no serían más que productos desintegrativos especiales adsorbibles por el substrato, e hidrolizantes por este mecanismo de transporte de agua.

Al hablar de las proteínas del plasma sanguíneo y de la formación de anticuerpos, volveremos a tratar de esta teoría de HERZFELD y KLINGER, que por lo menos habrá servido de esquema para ciertas investigaciones recientes, pero no podemos dejar de señalar el carácter hipotético y un poco artificioso de esta hipótesis, que está muy lejos de explicar con sencillez los fenómenos complejos de la síntesis de las proteínas y de su metabilismo. No es seguro que cada uno de los aminoácidos deba tener una tendencia prevalente a unirse por medio de valencias accesorias a su semejante. Tampoco se ha demostrado que el núcleo proteico deba estar privado o casi privado de agua, antes al contrario es más probable que el agua de imbibición penetre toda la partícula proteica. Es muy verosímil, y en esto parece más justa la concepción de HERZFELD y KLINGER, que en la superficie de las moléculas grandes o complejos moleculares sean adsorbidos otros varios materiales más sencillos (pero no todos de naturaleza proteica) o que de ella emerjan cadenas atómicas de la misma composición molecular y que estos grupos exteriores tengan una importancia grandísima en muchas reacciones biológicas ; pero esta idea no es original de HERZFELD y KLINGER.

Por otra parte, con la sola teoría de los solubilizadores, no podemos explicarnos ciertos fenómenos de precipitación de las proteínas : por

ejemplo, la coagulación que se produce al calentar sus disoluciones. Si se tratase solamente del desprendimiento de los productos adsorbidos en la superficie de la micela proteica, se debería tener la posibilidad, por lo menos hasta cierto punto, de redisolver el precipitado, por ejemplo : agitándolo largo tiempo en presencia del líquido que los ha separado y que contiene aún los productos desintegrativos no alterados, especialmente los más solubles que son también los más sencillos y no modificables por el calor. Por el contrario, la coagulación es irreversible en este caso y, además, las pruebas inmunitarias han demostrado que las proteínas calentadas han adquirido una nueva especificidad constitutiva. Un suero inmune obtenido con albúmina natural, por ejemplo, no reacciona o reacciona poco (en la fijación del complemento) con albúmina cocida y viceversa : esto demuestra probablemente un cambio intrínseco de la molécula, aunque sólo sea de algunos grupos atómicos de ésta, y no únicamente una modificación de solubilidad, es decir, una simple modificación física, debida a la separación de materiales unidos lábilmente a la periferia micelar.

Citemos, para terminar con este asunto, algunos puntos de contacto entre las ideas de HERZFELD y KLINGER, precisamente la parte menos hipotética de ellas, la de las valencias secundarias para explicar los fenómenos de adsorción y solución, y la teoría de LANGMUIR (1) acerca de la disposición de las moléculas respecto a la superficie, derivada de la de los hermanos BRAGG sobre la estructura cristalina.

LANGMUIR y HARKINS creen que, como en los cristales (en los cuales la unidad de estructura sería, según BRAGG, el átomo y no la molécula), también en los compuestos orgánicos los átomos de la superficie libre podrían saturar sus valencias secundarias con las de otros cuerpos, y así se explicarían muchos fenómenos de superficie. Véase lo que hemos dicho en la página 71 acerca de la disposición de las moléculas de un ácido graso extendido en capa sobre el agua.

Según esta opinión de LANGMUIR, los fenómenos de superficie tienen una causa esencialmente química ; esta idea, por lo menos en parte, está contenida en la teoría de HERZFELD y KLINGER. Puede considerarse que lo que se adsorbe en la superficie de las partículas coloidales tiene frecuentemente, si no siempre, una afinidad química con los constituyentes de la partícula, y que las capas que se forman tienen una orientación molecular que depende de su estructura química. También la energía de superficie tiene una relación por lo menos parcial con la naturaleza química de las substancias que forman la superficie. Creemos que esto rehabilita el conjunto de ideas de fundamento químico — como las que forman el contenido básico de la teoría de las cadenas laterales de EHRLICH — que en estos últimos años han parecido superadas por las concepciones puramente físicas de los fenómenos coloidales y de la mayoría de procesos que tienen lugar en el protoplasma.

(1) *Journ. Amer. chem. Soc.*, vol. XXXVIII, XXXIN, XL.

e) Clasificación de las proteínas.

Transcribimos en la página siguiente la clasificación que es esencialmente la usual en los libros ingleses, pero que no se diferencia mucho de las otras.

Debemos advertir que algunos colocan las proteínas del músculo, llamadas *miosina* y *miógeno*, formando un grupo aparte de las demás de su misma clase (proteínas sencillas).

En las clasificaciones más antiguas se encuentran también separados los llamados albuminoides coagulados, como la fibrina, etc., pero no son más que productos particulares de floculación coloidal de desnaturalización o quizás también de escisión incipiente de otras proteínas (así, la fibrina procede del fibrinógeno, que pertenece a las globulinas).

La distinción fundamental está, como se ve en el cuadro, entre proteínas *simples* y *conjugadas :* aquéllas son proteínas puras y a ellas se refieren las explicaciones químicas y físico-químicas dadas en las páginas precedentes, las *conjugadas* (llamadas también *proteidos)* comprenden en su molécula un núcleo proteico y al lado de éste un grupo atómico de naturaleza distinta que se llama *grupo prostético*. Este es a veces un complejo coloreado de estructura pirrólica (hemocromógeno) como en el caso de un cromoproteido, la hemoglobina, o bien, el ácido nucleínico, como en el caso de los núcleo-proteidos, o también un complejo atómico que contiene un hidrato de carbono como en el caso de los glucoproteidos. Hay algunos que quisieran hacer desaparecer la distinción entre proteínas simples y proteidos : según ellos, éstos no son más que combinaciones de proteínas de carácter más o menos básico con grupos de carácter ácido (hemocromógeno, ácido nucleínico, ácido condroitinsulfúrico, etc.), pero las proteínas de uno y otro grupo sólo se distinguirían entre sí por la mayor o menor alcalinidad que permite su unión con grupos ácidos a la manera de las sales.

Las fosfoproteínas han sido colocadas por algunos entre los proteidos, porque tienen un grupo fosforado que podría considerarse como un grupo prostético, pero se trata de una combinación bastante íntima del P con la molécula proteica, no de un complejo fosforado, conjugado con la proteína y fácilmente separable de ésta. El concepto de grupo prostético es precisamente el de un grupo atómico característico, fácilmente identificable, ligado a la proteína por una unión considerada en la actualidad como verdaderamente salina, de modo que es posible obtener separadamente la proteína y el grupo prostético con relativa facilidad, sin destruir ni uno ni otro, por ejemplo, mediante una doble sustitución con otra sal. Desde este punto de vista, los glucoproteidos tienen también una colocación incierta : el hidrato de carbono está frecuentemente incluído en la molécula proteica, y aun hay quien recientemente admite que casi todas las proteínas contienen grupos reductores ; de todos modos, el grupo reductor de los glucoproteidos típicos (mucina, por ejemplo), se separa con abundancia y especial facilidad.

CLASIFICACIÓN DE LAS PROTEÍNAS

- *Proteínas, albuminoides o substancias proteicas*
  - *Proteínas o albuminoides sencillos o proteínas propiamente dichas*
    - De carácter acentuadamente básico, por su particular riqueza en diaminoácidos.
      - Máximo carácter básico, precipitables por el ácido fosfotúngstico en medio neutro o alcalino, solubles en NH_3 — *Protaminas* (en los espermatozoos de los peces).
      - Menor carácter básico, precipitables por el ácido fosfotúngstico solo en medio neutro ; insolubles en NH_3 — *Histonas* (en los leucocitos, hematíes, etc.)
    - De carácter neutro o ácido preponderante.
      - *Albúminas* (solubles en agua destilada y soluciones salinas diluídas).
      - *Globulinas* (insolubles en agua, solubles solamente en soluciones diluídas de sales neutras).
      - *Glutelinas* (insolubles en agua y soluciones salinas, solubles en álcalis y ácidos muy diluídos : *sólo vegetales).*
      - *Protaminas* (insolubles en agua, solubles en alcohol de 80 % : *sólo vegetales).*
      - *Escleroproteínas* (insolubles en ácidos, álcalis diluídos, soluciones salinas, agua ; resistentes pues a todos los reactivos. Constituyen tejidos de protección y de sostén ; frecuentemente tienen una composición bastante distinta de las otras, les faltan ciertos aminoácidos, etc.).
      - *Fosfoproteidos* (contienen P, pero no unido en forma de ácido nucleínico como los núcleoproteidos).
  - *Proteínas o albuminoides conjugados o proteidos.*
    - *Cromoproteidos* (hemoglobina, hemocianina, etcétera).
    - *Núcleoproteidos* (componentes nucleares : cromatina. Contienen P en forma de ácido *nucleínico).*
    - *Glucoproteidos* (mucina, mucoides, amiloides).

f) Proteinas simples (albuminoides simples).

Nos limitaremos a exponer los caracteres de los grupos principales — exceptuando las protaminas vegetales y las glutelinas que sólo se encuentran en las plantas — y a citar algunos de sus representantes más típicos.

Comencemos por las *protaminas* y por las *histonas*, que representan las proteínas más sencillas, de peso molecular efectivamente más bajo. Las *protaminas* son cuerpos relativamente sencillos, *exentos de azufre* (a diferencia de todos los demás albuminoides y que contienen relativamente más N y menos C que las demás proteínas. Están constituídas esencialmente por diaminoácidos (arginina) y contienen pocos

monoaminoácidos. Son *bases* bastante fuertes, de tal modo, que el ácido fosfotúngstico las precipita aun en solución alcalina ; con los ácidos forman verdaderas sales, y son precipitables por los coloides negativos (ácidos). *No se coagulan por el calor.*

La pepsina no las ataca, la tripsina sí, y los polipéptidos resultantes se llaman *protonas*. Las protominas sólo se encuentran en el esperma de los peces en donde aparecen durante la maduración de los espermatozoides (en las « cabezas » de éstos). Citemos la *salmina* (esperma de salmón), cuya molécula contiene probablemente 10 moléculas de arginina, 2 de serina, 2 de prolina y 1 de valina y tiene la fórmula $C_{81}H_{155}N_{45}O_{18}$; la *clupeína* (esperma de arenque) que contiene arginina, prolina, serina y alanina ; la *ciprinina* de la carpa ; la *esturina*, del esturión, etc. Son tóxicas para los vertebrados superiores ; no tienen poder antigénico.

Las *histonas* son un poco menos básicas que las protaminas ; el ácido fosfotúngstico las precipita sólo en solución neutra. A diferencia de las protaminas, *precipitan con amoníaco* (un exceso las redisuelve). Coagulan por el calor solamente en presencia de una gran cantidad de sales, pero el *coágulo se redisuelve por los ácidos* y si se neutraliza la solución se puede, calentando de nuevo, volver a precipitar las histonas. El ácido nítrico concentrado las coagula, pero el coágulo se disuelve por el calor y reaparece con el enfriamiento. Precipitan con los coloides negativos, igual que con proteínas de carácter ácido preponderante, y se combinan con varios ácidos (también con el ácido nucleínico, al cual se encuentran unidas, formando núcleohistonas, las histonas de los leucocitos tímicos, las de los hematíes de los pájaros, las de la cabeza de los espermatozoides de invertebrados y de peces, etc.). La *globina*, que se encuentra acoplada con el hemocromógeno para formar la hemoglobina, es una histona. Las histonas contienen también muchos diaminoácidos (arginina, lisina), pero siempre más monoaminoácidos que las protaminas y siempre S. La globina, según datos recientes de Hunter y Borsook (1), contiene en su molécula 2 moléculas de triptófano, 4 de arginina, 4 de tirosina, 8 de histidina, 10 de lisina y 100 de otros monoaminoácidos no bien identificados, entre los cuales los hay con dos carboxilos. No es bien seguro que las histonas obren como antígenos.

Las *albúminas* (sería conveniente abandonar el nombre de albúminas para las proteínas en general y conservarlo para *este* grupo de proteínas), son ricas en S (1,5-2 %) y contienen casi todos los aminoácidos, excepto la glicocola. Son solubles en agua destilada, por lo tanto entran en solución sin la ayuda de los electrólitos ; sin embargo, lo son también en presencia de pequeñas cantidades de sales neutras. Precipitan, pues, mediante soluciones de sales neutras (NaCl, $MgSO_4$) sólo cuando éstas son concentradas y mejor aún si están ligeramente

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. LCII, pág. 507, 1923.

aciduladas. El sulfato amónico empieza a precipitarlas desde que está concentrado al 65 % de su punto de saturación, pero sólo añadido a *saturación* (de preferencia acidulando ligeramente) las precipita en su totalidad. Algunas son cristalizables.

Citemos la *seroalbúmina* del plasma sanguíneo que tiene $(\alpha)_D = -57°\text{-}64°$; completamente distinta es la *lactalbúmina* de la leche (rica en lisina) que tiene $(\alpha)_D = -37°$ y es mucho más abundante en la leche de mujer que en la de vaca.

Las *globulinas* son, al contrario de las albúminas, insolubles en agua pura y solubles sólo en presencia de una cierta cantidad de sales neutras ; puede, pues, aplicarse a ellas todo lo que hemos dicho acerca de la acción solubilizante de las pequeñas concentraciones salinas (pág. 121). Se comprende que la *diálisis* de un líquido (suero sanguíneo) que contiene albúminas y globulinas, separando las sales solubilizantes de las globulinas, haga precipitar a éstas, mientras que las albúminas, solubles también en agua, permanecen disueltas. Los ácidos diluídos y también el CO_2 las precipitan (carácter ácido de las globulinas) ; por el contrario, los álcalis diluídos las disuelven. Las grandes concentraciones de sales neutras las precipitan, como es natural ; así pasa con el NaCl y el $MgSO_4$ a saturación, el sulfato amónico a semisaturación y, para ciertas fracciones globulínicas, a saturación aún menor

A muchos les parece que las albúminas, tratadas con álcalis, producen cuerpos muy semejantes a las globulinas, lo cual sería una prueba de que éstas están genéticamente unidas con las albúminas Por otra parte, hay motivos para admitir que las albúminas pueden derivar de las globulinas por un proceso esencialmente coloidal, consistente en una disminución de la dispersión (las albúminas parecen ser más dispersas, de micelas más pequeñas que las globulinas y por esto serían menos fácilmente floculables que éstas ; prueba de ello es que permanecen en solucion en ausencia de electrólitos). Para nosotros tienen importancia las *seroglobulinas* del plasma sanguíneo, de las que generalmente se distinguen tres fracciones, diferenciables por el grado de concentración del $(NH_4)_2SO_4$ que basta para precipitarlas : la *fibringlobulina* o *fibrinógeno* que precipita con una saturación de cerca del 25 % ; la *euglobulina*, que necesita el 33 %, y la *pseudoglobulina*, que precipita con el 48 % de saturación de esta sal. Pero no se sabe si se trata de especies químicas diversas o sencillamente de estados coloidales distintos : el grado de dispersión parece que crece desde la fibringlobulina (la menos dispersa, de micelas más grandes, de donde se deriva su mayor floculabilidad) a la pseudoglobulina (que es la más dispersa y de micelas más pequeñas). Herzfeld y Klinger admiten una degradación progresiva de los proteicos del plasma sanguíneo, que originaría proteínas celulares, las cuales, aumentando sucesivamente de dispersión y por lo tanto creciendo en estabilidad coloidal, pasarían por los distintos períodos de fibrinógeno, eu- y pseudoglobulina y albúmina ; insistiremos acerta de esto al tratar del plasma

sanguíneo. Ciertamente, el fibrinógeno es el coloide más inestable de este líquido circulante: precipita ya con NaCl y $MgSO_4$ a $^1/_2$ saturación y con $(NH_4)_2SO_4$ a $^1/_4$ saturación, y se coagula a temperatura más baja que las demás proteínas del plasma (a 50°-52°, en lugar de 70°-75°, como lo hacen las demás proteínas, en presencia de los electrólitos del plasma). Cuando se calienta progresiva y lentamente el plasma sanguíneo, el fibrinógeno es, pues, el primero en coagular. En el proceso de coagulación extravascular de la sangre y en las trombosis, el fibrinógeno se transforma irreversiblemente en *fibrina*. Para las distintas globulinas plasmáticas, $(\alpha)_D = -48°\text{-}52°$.

Tenemos después la *lactoglobulina*, presente en pequeña cantidad en la leche, y en mucha mayor proporción en el calostro; la *ovoglobulina* de la clara de huevo; las globulinas de varios órganos, entre las cuales las mejor conocidas son las dos del cristalino (*α-* y *β-cristalina)*, la *tireoglobulina* del tiroides, que es una globulina yodada (por hidrólisis, el yodo se separa unido a un cuerpo, que debe ser algo parecido a un polipéptido, la *yodotirina;* pero hoy se considera que el yodo tiroideo está unido principalmente a la llamada tiroxina de KENDALL, que es un ácido triyodotrihidrooxindolpropiónico, del que nos ocuparemos al tratar de los derivados indólicos en el párrafo *m* de este capítulo y que quizás forme parte de la molécula de la proteína específica del tiroides. Es parecida a las globulinas (aunque fué considerada en otro tiempo como una albumosa) la *albúmina de* BENCE-JONES encontrada en la orina (afecciones destructivas de la medula ósea, especialmente en el *mieloma múltiple)*: es una proteína que precipita a 60° pero que se disuelve a temperatura más alta (coágulo-termolábil: al enfriarse reaparece); precipita con ferrocianuro de K y ácido acético o con ácido nítrico, como cualquier otra albúmina urinaria, pero siempre se redisuelve al calentar.

Podemos citar también, como próximas por una parte a las histonas y por otra a las globulinas, las proteínas del plasma muscular (particularmente de los músculos estriados): son la *miosina* y el *miógeno*, la primera más parecida a las globulinas que la segunda (que es soluble en agua pura). Ambas tienen un cierto carácter más básico o menos ácido que las globulinas; así precipitan con los álcalis, lo cual las aproxima a las histonas. Las dos son coagulables espontáneamente y producen un coágulo irreversible como lo hace el fibrinógeno: las respectivas proteínas coaguladas se llaman *miosinfibrina* y *miogenfibrina*. El 20 % de las proteínas de los músculos está constituído por la miosina y el 80 % por el miógeno. La temperatura de coagulación es de 46-50° para la miosina y de 55-65° para el miógeno, pero la coagulación espontánea se verifica también a la temperatura ambiente. La miosina forma con los ácidos una acidalbúmina, que se llama *sintonina*.

Las *escleroproteínas*, *proteinoides* o *albumoides* son un grupo de proteínas un poco más heterogéneo que tiene de común la propiedad fisiológica de servir para la función de protección o sosten en virtud

de su condición de gel más o menos resistente, a veces verdaderamente duro y están localizadas principalmente en las formaciones paraplasmáticas. Las escleroproteínas constituyen, pues, el tejido conjuntivo, los tegumentos y otras formaciones semejantes. Todas son insolubles en el agua, soluciones alcalinas, álcalis y ácidos diluídos: sólo las atacan, produciendo una profunda desnaturalización, los ácidos y álcalis fuertes. Algunas contienen grupos reductores en abundancia, por lo que se aproximan a los glucoproteidos; otras carecen de aminoácidos muy importantes, por lo cual son proteínas en cierto modo incompletas (por esto y por su difícil solubilidad y atacabilidad tienen poco valor alimenticio). Entre ellas se cuenta el *colágeno* que es el componente más abundante del tejido conjuntivo, de la substancia fundamental de los huesos y de los cartílagos: es un proteico inatacable o casi inatacable por la tripsina, pero atacable por la pepsina. Del colágeno, por ebullición prolongada con agua (más rápidamente si contiene ácido) se forma la *cola*, *glutina* o *gelatina*, quizás por un proceso inicial de hidrólisis. La cola, glutina o gelatina es soluble en agua, mejor si es caliente; cuando la solución se enfría, se obtiene una gelificación típica (la verdadera gelatina). Este gel de gelatina (o simplemente gelatina) tiene la propiedad de hincharse mucho en contacto del agua y ha servido para multitud de investigaciones acerca de los fenómenos de imbibición, así como también se emplea para dar consistencia a los medios de cultivo para bacterias, a materiales alimenticios (dulces a base de leche, huevos y azúcar, verdaderos emulsoides que es necesario gelificar con objeto de darles forma y buen aspecto). La gelatina contiene mucha glicocola, pero no contiene triptófano ni tirosina (véase lo referente a las reacciones coloreadas de los albuminoides); contiene aproximadamente 0,5 % de azufre. No es precipitada por el alcohol, por las sales de metales pesados ni por el ácido nítrico. Los ácidos, álcalis, enzimas y todos los agentes hidrolizantes destruyen su propiedad de gelificar: ésta es, pues, peculiar de la gelatina íntegra. Modifican también esta propiedad las sales y otras impurezas. Generalmente, la gelatina pura disuelta en caliente, se cuaja en jalea cuando la temperatura ha descendido a 20°, la masa gelatinificada se redisuelve por el calor hacia los 25-26° (como puede comprobarse con la gelatina común empleada en bacteriología, que es un medio preparado al 10 %). Se ve, pues, que la temperatura de gelificación o consolidación no coincide con la de fluidificación y que, a una temperatura dada (por ejemplo, 22°), el estado de la gelatina no es siempre el mismo, sino que depende del modo como se ha alcanzado esta temperatura. Efectivamente, una solución de gelatina puede ser flúida a 22° por ejemplo, si se ha partido de una temperatura más elevada, y puede ser sólida si la temperatura inicial era más baja: por lo tanto, *el estado físico depende de la historia anterior del coloide*, lo cual es muy característico de los coloides y los distingue claramente de los cristaloides (1).

(1) Para otros materiales usados también en Bacteriología la diferencia entre el punto de fusión del gel y el punto de gelificación del sol, es también mayor:

Se encuentra colágeno también en los vertebrados inferiores y en los cefalópodos.

Recordemos también la elastina, la escleroproteína característica del tejido elástico : contiene mucha glicocola, nada de triptófano y poca tirosina. Es poco atacada por todos los fermentos, y efectivamente, las formaciones elásticas son las que sobreviven a todos los procesos de digestión, autolisis, fusión purulenta y necrosis colicuativa. Es muy resistente a todos los reactivos : ni los álcalis diluídos la disuelven ; de ahí los métodos clínicos de demostración de las fibras elásticas (en exudados, esputos, etc.) mediante tratamiento con álcalis diluídos que disuelven todos los materiales celulares, dejando libres las fibras elásticas. La elastina tiene gran elasticidad : probablemente esta cualidad física va reduciéndose por la influencia de tracciones, distensiones, compresiones o descompresiones repetidas, como sucede en todos los cuerpos elásticos al poner frecuentemente en acción su elasticidad. Esta alteración molecular progresiva de las formaciones elásticas es una de las causas principales del envejecimiento del organismo : la reducción de la elasticidad de los vasos, con el consiguiente trastorno circulatorio y trófico para los órganos, tiene una gran importancia (RIBBERT).

La *fibroína* o *proteína de la seda* es también muy resistente desde el punto de vista químico. Hirviendo la seda bajo presión se obtiene una solución de la llamada *cola de seda*. La fibroína no contiene S, pero no posee el carácter fuertemente básico de las protaminas a las cuales la aproximan la ausencia de S y su relativa sencillez de estructura ; tampoco contiene arginina, pero sí mucha glicocola, alanina y tirosina.

Citemos solamente las proteínas del manto de un molusco : *(Pinna nobilis)*, las de las telarañas, etc., muy parecidas a la fibroína de la seda verdadera. Existen unas escleroproteínas importantes, tan resistentes como la elastina y solubles sólo por la ebullición en potasa cáustica al 10 % : son éstas las *queratinas* (substancias córneas de la epidermis, pelos, uñas, cuernos, garras, plumas, etc.). Las queratinas son un producto particular de transformación del protoplasma de las células epidérmicas. Se caracterizan por su gran riqueza en S, principalmente en forma de cistina : pueden contener hasta un 5 % de azufre. Contienen tirosina y glicocola en abundancia. Por lo demás, existen grandes diferencias entre las diversas queratinas.

La llamada *neuroqueratina* de las vainas de los nervios no es una queratina verdadera (contiene poco S)

Citemos la *espongina* de las esponjas y la *gorgonina* de los celentéreos, que contienen diyodotirosina y también bromo unido a sus moléculas (pág. 101), la *conquiolina* de las conchas de los moluscos y de los huevos de caracol, la *membranina* del cristalino, etc.

---

para el agar que es un hidrato de carbono complejo, la solución al 2-2,5 % se disuelve a 95° y se cuaja cerca de los 55°.

Finalmente, entre las proteínas simples (aunque algunos las colocan entre las conjugadas) tenemos las *fosfoproteínas*, que se caracterizan por contener fósforo. No pueden, sin embargo, confundirse con los núcleoproteidos, porque éstos contienen P en forma de ácido nucleínico, es decir, un núcleo prostético bien definido, mientras que las fosfoproteínas lo poseen en otra forma, inseparable o imperfectamente separable por medio de las enzimas, así como por la sosa cáustica, en forma de ácido fosfórico. La parte fosforada de la molécula (pseudonucleína de los antiguos autores) no está bien definida : quizás puedan considerarse los fosfoproteidos como una sal cálcica de un ácido aminofosfórico : $NH_2 \cdot PO \cdot (OH)_2$ colocando, naturalmente, en el lugar del grupo amínico todo el complejo molecular proteico. En realidad, las fosfoproteínas son *ácidos* que son solubles en los álcalis, con los cuales forman sales verdaderas y características, que no precipitan por la acción del calor ; las fosfoproteínas son precipitadas de estas soluciones alcalinas por medio de los ácidos.

Una fosfoproteína importante es la *caseína* de la leche *(caseinógeno* de los ingleses, que llaman caseína al producto de precipitación del fermento lab o cuajo, el *caseum)*. Es un albuminoide exento de glicocola, rico en tirosina y triptófano (por lo tanto todo lo contrario de la gelatina), poco abundante en cistina y muy atacable por la tripsina ; posee 4 ó 6 carboxilos libres, y tiene carácter muy ácido. Contiene probablemente otros varios grupos, aun menos conocidos, ácido diaminotrioxidodecanoico, etc. Las caseínas de las varias especies animales se diferencian algo entre sí : así la de burra y de yegua contienen más N (16,4-16,2 %) que la de vaca (15,7 %) ; azufre 1 %. La caseína pura es insoluble en agua ; se disuelve en soluciones alcalinas constituyendo sales, y forma con los hidratos sódico o potásico soluciones transparentes (caseinato de Na o de K), mientras que las soluciones de la sal cálcica son opalescentes. Estos caseinatos son precipitables por las sales neutras muy concentradas, por las sales de metales pesados, etc., pero no por el calor. En efecto, la leche que contiene precisamente una combinación cálcica de la caseína no coagula por la ebullición, a menos que se acidifique (por ejemplo, por fermentación bacteriana de la lactosa con desarrollo de ácido láctico). Para obtener la caseína de la leche, basta acidificar ésta ligeramente (con ácido acético) y la caseína, que precipita *aun en frío*, se puede separar, redisolverla con álcali y reprecipitarla varias veces con ácido para que se purifique. Un exceso de ácido la redisuelve. No hay que confundir este proceso de coagulación o precipitación de la caseína de la leche por la acción de los ácidos (se la encuentra así en las leches llamadas *fermentadas*, tipo *yogurt* búlgaro, etc., en las cuales la acidificación es debida a la escisión de la lactosa por la actividad de las bacterias de la fermentación láctica) con la coagulación por el fermento-lab del estómago : el primero no es más que una precipitación de la caseína que estaba formando una combinación (por lo demás muy compleja) salina en la leche, mientras que la segunda es un proceso de *escisión*

hidrolítica inicial, por el cual la caseína se transforma en *paracaseína*; ahora bién, mientras las sales de cal de la caseína original son solubles, las sales cálcicas de la paracaseína no lo son y precipitan como *caseum* o cuajo. Insistiremos luego sobre este proceso de coagulación enzimática de la caseína.

En la yema de huevo de gallina se encuentra una fosfoproteína, la *vitelina*, en íntima mezcla o combinación (adsorción ?) con lecitina y una substancia ferruginosa llamada *hematógeno*; en los huevos de pez se ha descrito una *ictulina* semejante.

Es interesante observar que se encuentran fosfoproteínas, frecuentemente en íntima relación con lipoides, en los materiales destinados a la nutrición del embrión (yema de huevo) o del animal joven (leche). Aunque sean químicamente distintas de los núcleoproteidos, no es inverosímil que su fósforo pueda servir para la construcción del ácido nucleínico y, por lo tanto, para la preparación del precioso material de los núcleos celulares.

g) Cromoproteidos.

Son proteidos constituídos por un núcleo proteico y por un núcleo prostético coloreado y que contiene siempre un metal pesado : hierro, cobre, manganeso o vanadio. Se trata de substancias con función respiratoria, esto es, destinada a la fijación del oxígeno atmosférico y al transporte de éste a los tejidos : son, pues, los llamados *pigmentos respiratorios*.

Están contenidos en los hematíes, como la hemoglobina de los vertebrados, o disueltos en el plasma como la hemocianina de ciertos invertebrados, y son capaces de fijar y luego ceder el oxígeno, apareciendo así en la forma oxidada y la reducida.

Prescindiendo de un pigmento respiratorio de las ascidias, que contiene vanadio, y del de un molusco marino *(Pinna squammosa)* que contiene manganeso, debemos describir aquí brevemente la hemoglobina y la hemocianina.

1. *Hemoglobina y sus derivados.* — La hemoglobina se encuentra normalmente en los hematíes de los vertebrados, nunca disuelta en el plasma ; en los hematíes viene a constituir como una solución sobresaturada densa.

La hemoglobina forma unas 8/10 del peso del glóbulo rojo en estado seco ; el resto es debido a grasas, lipoides (lecitina y colesterina), algunas otras substancias proteicas, glucosa y sales minerales. Debe notarse que el glóbulo rojo contiene relativamente menos agua que las demás células (sólo 60 % en vez de 75 % en el músculo). Conviene también añadir que en 100 c. c. de sangre se encuentran unos 14 gr. de pigmento. La hemoglobina, pues, se encuentra en el glóbulo en gran concentración, alrededor del 30 %, y el hecho de que una concentración tan alta se mantenga sin precipitación ni cristalización del proteido debe ser un efecto de protección coloidal (en efecto, la hemoglobina o mejor, la oxihemoglobina se separa rápidamente en forma cristalina de la sangre total y lacada de ciertas especies, como el ratón).

La *hemoglobina reducida*, o simplemente hemoglobina, se escinde por medio de los álcalis o ácidos diluídos (en ausencia de oxígeno) o mediante ebullición u otros procesos de desintegración (enzimas) en un cuerpo proteico, la *globina* que es una histona (véase pág. 140) y el verdadero grupo cromático, ferruginoso, llamado *hemocromógeno*. La hemoglobina (con frecuencia se escribe abreviadamente Hb) se combina ávidamente con el oxígeno, de manera reversible, formando la *oxihemoglobina*, de modo que una molécula de Hb, que contiene un átomo de Fe, une una molécula de O_2 con dicho átomo, dando origen a una molécula de oxihemoglobina. Este compuesto reversible se puede representar por HbO_2, pudiendo escribirse la siguiente igualdad

$$Hb + O_2 \rightleftharpoons HbO_2.$$

Si con los medios corrientemente usados, por ejemplo con ácidos diluídos, se escinde la molécula de hemoglobina, se obtiene globina y un producto de oxidación del hemocromógeno, que durante mucho tiempo se ha creído que era la *hematina* y así se denominó, pero que en realidad, es un peróxido del hemocromógeno. Actualmente se sabe que la hematina tiene otro origen : con este nombre se designa un producto de oxidación del hemocromógeno que, sin embargo, no se deriva de la oxihemoglobina, sino de otro óxido de la hemoglobina que es la metahemoglobina, caracterizado por la mayor tenacidad de su unión con el oxígeno. Tendremos pues, el siguiente, esquema (1) :

Hemoglobina : se divide en globina + Hemocromógeno.
Oxihemoglobina : se divide en globina + Peróxido de hemocromógeno.
Metahemoglobina : se divide en globina + Hematina.

La creencia de que la hematina era el núcleo cromático de la oxihemoglobina en el estado de oxidación correspondiente a ésta, se debía al hecho de que tratando oxihemoglobina en presencia de aire con ácidos o en la digestión clorhidropéptica de la oxihemoglobina se formaba realmente hematina ; pero actualmente se sabe que esto es debido a que el primer tratamiento transforma la oxihemoglobina en metahemoglobina y ésta, por la escisión, libera el núcleo ferruginoso en forma de hematina. Nótese incidentalmente que la transformación de la oxihemoglobina en metahemoglobina sobreviene espontáneamente, aun a 0°, igual que la de un peróxido inestable en óxido estable, y que los ácidos no hacen más que acelerarla.

Si la hemoglobina o la oxihemoglobina se separan del glúbulo rojo para disolverse en el medio que rodea a éste, se dice que hay *hemolisis*.

(1) Küster, *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. LXVI-LXXI.

Puede haber hemolisis con destrucción completa del estroma del hematíe (por ejemplo, con sosa cáustica) y hemolisis con conservación del estroma como *sombra*, privado del pigmento (por ejemplo, por hipotonía del medio). Si la hemolisis se produce *in vivo*, hay una disolución del pigmento en el plasma *(hemoglobinemia*, y accidentalmente *metahemoglobinemia)*. La sangre hemolizada *in vitro* se llama también *sangre de color de laca* o *lacada*.

El grupo cromático fundamental, oxidable de varias maneras y capaz de fijar también óxido de carbono, es, pues, el hemocromógeno. Adviértase que éste no constituye más que el 5 % de la molécula del cromoproteido íntegro (hemoglobina) ; el resto se compone de globina, que es una histona y, por lo tanto, un albuminoide básico rico en histidina. Sin embargo, como este grupo cromático contiene Fe, es el que comunica a la hemoglobina sus características biológicas, especialmente la aptitud para adquirir oxígeno y para cederlo, con alternativas de oxidación y de reducción.

Probablemente el hemocromógeno y las histonas están combinados en forma salina, y el proteido completo, la hemoglobina, a su vez actúa también de ácido combinándose (Bottazzi) con los álcalis del hematíe, ricos principalmente en K. El producto de oxidación más importante de la hemoglobina, la oxihemoglobina, parece que también está en combinación con los álcalis : la HbO_2 sería *más ácida* que la Hb. Por lo demás, aparte de esta función ácida predominante, la Hb y la HbO_2 tienen también una función básica, siendo pues anfolitos como todos los proteicos.

La oxihemoglobina puede obtenerse cristalizada de la sangre, separando los hematíes por centrifugación, lavándolos varias veces con solución de NaCl al 1 % para separar bien todo el plasma, y añadiendo luego a la masa de glóbulos rojos un volumen aproximadamente igual de éter para lacarlos ; después se filtra, se añade al filtrado $^1/_4$ de su volumen de alcohol y se mantiene varias horas a temperatura baja (— 5° por lo menos), hasta que se separen cristales, que varían de forma según los animales. Pero la facilidad de cristalización no es igual para todas las oxihemoglobinas : las más fáciles de cristalizar (aun con la sangre simplemente lacada con agua) parece que son las del ratón y del cobayo ; viene después la del perro, siendo difícil obtener cristales de HbO_2 o Hb de hombre. También la forma cristalina, la cantidad de agua de cristalización y la composición química varían de una a otra especie. Ciertas diferencias pueden ser debidas, en realidad, a impurezas o procesos de descomposición inicial. La oxihemoglobina se puede purificar disolviéndola y recristalizándola varias veces ; entonces presenta una proporción constante de Fe, alrededor del 0,33 %. Se ha admitido la posibilidad de que en ciertos estados patológicos (hemopatías) existan oxihemoglobinas más o menos ricas en Fe, pero parece que se trata de datos cuantitativos debidos a purificación incompleta de los preparados. Si se supone un átomo de Fe en la molécula de oxihemoglobina y se recuerda que la HbO_2 resulta de la unión de una molécula de Hb con una de oxígeno, el peso molecular de la HbO_2 viene a ser 16,700.

La oxihemoglobina es dextrógira en sus disoluciones; $(\alpha)_C = + 10°$.

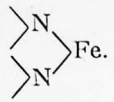
Mucho más importante es el *espectro de absorción* de la HbO_2. Se observa bien examinando al espectroscopio una capa de 1 cm. de espesor de solución al 0,1-0,06 % de HbO_2 o de sangre diluída al 1,25-1: 100. Se ven en el espectro dos bandas de absorción entre las regiones y E (en el amarillo verde) ; la más próxima a D es la más estrecha y más clara, la más próxima a E (más hacia el violeta) es más ancha y difusa (su máximo corresponde respectivamente a $\lambda = 577\,\mu\mu$ y $\lambda = 740\mu\mu$). Además, hay una ancha banda en el violeta, que ocupa también algo del azul y que permanece constante aun con diluciones de hemoglobina que hacen desaparecer las dos bandas de la zona D-E. Con grandes concentraciones son absorbidos todos los rayos, menos los rojos (por esto el pigmento es rojo). La oxihemoglobina absorbe también los rayos ultravioleta, lo cual implica una acción protectora para los tejidos expuestos a la luz, irrigados por la sangre : en efecto, la irrigación, con presteza providencial, aumenta cuando la insolación es intensa ; la hiperemia es el primer efecto de la luz sobre los tejidos, después de lo cual entra en juego el segundo y más importante medio protectivo, que es la pigmentación. La sangre bien oxigenada da exactamente el espectro de la oxihemoglobina, que es el único pigmento fisiológicamente contenido en ella en cantidad apreciable. El estudio de la constante espectrofotométrica tiene importancia para comprobar la concentración y la pureza de un material coloreado.

La oxihemoglobina, tratada por agentes reductores (sulfuro amónico, sulfhidrato sódico, sales ferrosas, putrefacción) o también expuesta al vacío, cede O_2 y *se reduce a hemoglobina*. Esta también es cristalizable (al abrigo del aire), y los cristales, igual que la Hb en solución, fijan ávidamente el O para retransformarse en HbO_2. Son conocidas las diferencias de color entre la HbO_2 (rojo brillante) y la Hb (rojo muy oscuro, el color de la sangre asfíctica, que casi sólo contiene Hb). El espectro de la Hb tiene una banda única entre la D y la E, que corresponde aproximadamente al punto medio entre las dos bandas de la HbO_2 y se llama banda de Stokes ; además tiene una banda en el violeta-ultravioleta como la HbO_2.

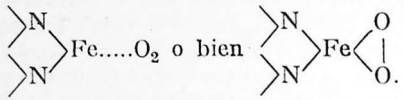
La Hb no sólo fija O_2, sino tambien CO, convirtiéndose en *carboxihemoglobina* o HbCO. Los dos gases O_2 y CO pueden sustituirse volumen a volumen en la fijación por la Hb, y este pigmento fija iguales cantidades (máximas) del uno que del otro : 1,33 c. c. de gas por cada gramo de Hb.

La fijación de los gases (y especialmente la del O_2) por parte de la sangre no ofrece, sin embargo, la constancia cuantitativa de la fijación de los gases por la Hb pura en solución, porque la reacción, eminentemente reversible, es influenciada por varios factores físico-químicos.

Esta fijación del O_2 en la Hb se verifica gracias al átomo de Fe. Como veremos, el hemocromógeno es un compuesto de 4 anillos pirrólicos, de los cuales dos presentan el Fe bivalente para sustituir a dos H del grupo imínico de este modo :



Ahora bien : en la oxidación ordinaria, tal como se verifica en la sangre que atraviesa el pulmón para dar lugar a la formación de HbO_2, se forma un peróxido :



Este es el *peróxido del hemocromógeno* que, unido con la globina, forma la oxihemoglobina (véase esquema de la pág. 147). Este peróxido es fácilmente disociable y la disociación obedece a las leyes siguientes:

La temperatura influye en el sentido de favorecer la disociación a medida que se eleva.

La cantidad de O_2 fijada depende de la tensión parcial del O_2 en contacto con la sangre : en el vacío, pues, se debería obtener la disociación completa ; con una tensión infinita de O_2, se tendría que lograr la fijación máxima según la cifra más arriba citada : pero en una atmósfera de O_2 puro ya se obtiene en la práctica la fijación máxima. También en el aire, que contiene aproximadamente un 21 % de O_2, se encuentran valores altísimos de fijación del gas : el 99 % de la Hb está combinada con O_2 y sólo queda un 1 % de Hb inalterada. Cuando la atmósfera que está en contacto con la solución de Hb sólo contiene 10 % de O_2, se satura todavía un 92 % de la hemoglobina, y dicha saturación es siempre de un 50 % en una atmósfera con sólo el 2,5 % de O_2.

Puede construirse la *curva de disociación* de la HbO_2, anotando sobre las abscisas las distintas tensiones parciales de O_2 en la atmósfera que está en contacto con la solución del pigmento, y sobre las ordenadas las saturaciones parciales o relativas correspondientes de la Hb (o bien los volúmenes de O_2 combinados con una cantidad dada de Hb o de sangre). La curva tiene la forma representada en la figura 5 y es la expresión del hecho biológicamente interesante de que se necesitan reducciones notabilísimas de la presión parcial del O_2 en la atmósfera para que su fijación sea reducida medianamente, por lo cual las modificaciones de la presión del O_2 que pueden presentarse en la vida a diversas alturas del globo, tienen poca influencia sobre la capacidad de fijación de O_2 por la Hb de la sangre contenida en los

vasos pulmonares. Por el contrario, cuando la sangre circula por los tejidos, como éstos tienen propiedades reductoras considerables, como claramente han demostrado las clásicas experiencias de EHRLICH, la presión parcial del O_2 en ellos debe ser mínima, permitiendo una amplia disociación de la HbO_2 con cesión de O_2 a los tejidos. En resumen, en la reacción entre la Hb y el O_2 tenemos el ejemplo de una reacción reversible claramente regida por las leyes de acción de las masas. La cantidad de O_2 que se une con la Hb no es sencilla y directamente proporcional a la presión parcial del O_2 en la atmósfera que está en contacto con la solución del cromoproteido, como sucedería si el gas se

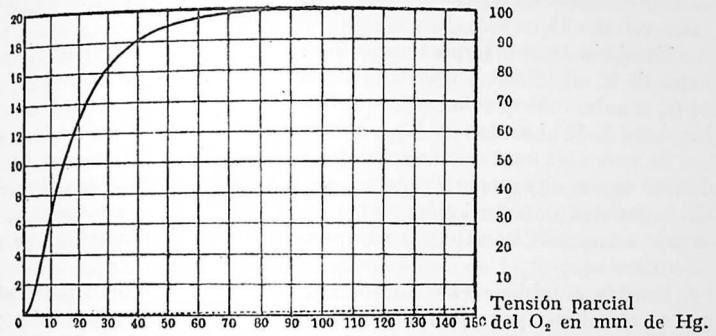


FIG. 5. La línea de trazo continuo señala la tensión de disociación de la oxihemoglobina. La línea punteada indica la cantidad de oxígeno disuelto en el plasma. Sangre de caballo a 38° C. (según KROGH)

disolviese simplemente en la solución, en cuyo caso debería obedecer únicamente a las leyes de HENRY (pág. 30). Lo que sucede es que la cantidad de O_2 que entra en combinación crece rápidamente al aumentar la presión parcial del gas libre y mucho más aprisa que ésta, para alcanzar muy pronto casi el límite máximo de saturación, por lo cual los aumentos consecutivos de presión poca influencia pueden tener sobre la cantidad de O_2 fijado (1).

La reacción del medio tiene gran influencia. Los álcalis aumentan la velocidad de combinación entre la Hb y el O_2, y hacen crecer el tanto por ciento de saturación para una presión dada ; en cambio los ácidos reducen estos valores. En otros términos, los álcalis facilitan la oxidación de la Hb y los ácidos la reducción de la HbO_2, o sea que favorecen su disociación. Por ejemplo, una solución de Hb en agua expuesta a una tensión de O_2 equivalente a 50 mm. de mercurio, es saturada a menos del 80 % (esto es, que menos del 80 % de la Hb se encuentra en

(1) Respecto a los gases de la sangre, véase también la Parte II, Secc. II.

forma de HbO_2); si la misma solución se alcaliniza con carbonato amónico (BARCROFT y CAMIS), la saturación llega al 98 %. El ácido carbónico obra como ácido y, por lo tanto, favorece la disociación de la HbO_2 y la liberación de O_2. Esto tiene un enorme valor biológico: en efecto, la HbO_2 se disocia fácilmente cuando la sangre cargada de ella llega a las redes capilares periféricas, en donde, por efecto de los productos metabólicos ácidos y especialmente del ácido carbónico (H_2CO_3), existe una mayor concentración en iones H.

Parece que esta acción de los ácidos es debida a una modificación coloidal de la hemoglobina; por efecto del aumento de concentración de los iones H se realizarían fenómenos de agregación molecular y por lo tanto, como ha sostenido HILL (1), una reducción de la capacidad para retener O_2.

También tienen importancia las sales disueltas en el líquido: las sales de K añadidas a una solución de Hb aumentan su avidez para el O_2 mucho más que las sales de Na. Se da precisamente el caso que las sales de K abundan en los hematíes, especialmente en los humanos; los de perro las contienen en menor cantidad. Las variaciones del contenido salino de especie a especie pueden, pues, explicar las diferencias de capacidad de saturación en las diversas especies, sin tener que recurrir a suponer variable la composición de la hemoglobina en cada una de ellas.

Pueden también tener importancia algunos factores hasta ahora poco conocidos, por ejemplo, agentes enzimáticos, capaces de acelerar la escisión de la HbO_2 a nivel de los tejidos. En realidad una solución de HbO_2 cede su O_2 mucho más lentamente que la sangre arterial (rica en HbO_2), y en general puede decirse que la curva de disociación de la sangre total difiere siempre más o menos — a consecuencia de los factores citados, en ella presentes — de la que presenta una simple solución del pigmento.

Manteniendo sangre oxigenada en contacto con CO conserva su hermoso color rojo brillante (que se hace aún más claro), pero el O_2 es sustituído volumen a volumen por el CO; aparece entonces la *carboxihemoglobina* (HbCO). Este compuesto tiene un espectro de absorción parecido al de la HbO_2; únicamente las dos bandas entre D y E son más pálidas y difusas y un poco más desplazadas hacia el violeta. Rotación específica: $(\alpha)_C = + 10{,}8$. La distinción entre una solución de HbO_2 y una de HbCO se verifica fácilmente con la ayuda de agentes reductores como el sulfuro amónico. La primera se reduce a Hb y se puede seguir el fenómeno en el espectroscopio observando cómo las dos bandas del amarillo verde de la HbO_2 se transforman en la única de la Hb reducida; por el contrario, la HbCO permanece invariable. Es notable que la *afinidad relativa* del CO para la Hb es unas 100 veces mayor que la del O_2 para el mismo pigmento; la combinación se verifica en el primer caso con mucha mayor tenacidad, o sea, que el

(1) *Journ. of Physiol.*, vol. XL, 1911.

complejo HbCO tiene mucha menos disociabilidad que el compuesto HbO_2. Se comprende así que la sangre fije CO en abundancia aun con proporciones mínimas de este gas en el aire; de una mezcla de O_2 puro con 0,45 % de CO, la sangre fija la cantidad de CO necesaria para saturar la mitad de su Hb con CO y la otra mitad con O_2. La Hb que ha fijado el CO puede decirse que está eliminada de los cambios respiratorios, ya que el CO no puede ser desalojado fácilmente por el O_2 de su combinación con el pigmento; esta es la causa principal (y según muchos, la exclusiva) de la acción tóxica del CO. Se comprende que este gas sea peligrosísimo porque bastan pequeñas cantidades en el aire para combinarse con avidez con gran parte de la hemoglobina disponible. Por otra parte, la HbCO no es del todo indisociable: las grandes masas de O_2 pueden disputar al CO la posesión de la hemoglobina y aun desalojarlo completamente, sustituyéndole: he aquí la base de la terapéutica del envenenamiento por el CO, por medio de inhalaciones de oxígeno, que deben ser abundantes y oportunamente ayudadas por otros medios capaces de llevar el O_2 al mayor contacto posible con los alvéolos pulmonares.

Se conocen otras combinaciones de la Hb con gases: la HbNO por combinación con el óxido de N, NO, avidísimo del pigmento, aun más que el CO; la *cianhemoglobina* por unión con HCN o ácido cianhídrico y la *sulfohemoglobina* por combinación con H_2S, pero estas dos últimas no tienen gran importancia para explicar la toxicidad del HCN y del H_2S, que depende de otras causas.

También el CO_2 se combina con la hemoglobina, pero no con el Fe de ésta (y por lo tanto sin sustituir el O_2 o el CO), sino con entera independencia de estos gases y probablemente con el núcleo proteico: se forma la que podríamos llamar *carbodioxihemoglobina*, que tiene importancia para el transporte del CO_2 en la sangre. Parece verosímil que la hemoglobina se combine también con el cloroformo y el éter (anestésicos) que en los hematíes tienen substratos fijadores especiales, principalmente los lipoides.

Debemos decir algo acerca de otros derivados de la hemoglobina que nos permitirán profundizar en el conocimiento de la estructura de la misma. Ante todo recordemos el óxido de hemoglobina en el cual el O_2 está unido en forma más tenaz que en la HbO_2: la *metahemoglobina*. Esta se obtiene especialmente por acción de los oxidantes, como el ferricianuro potásico, sobre la hemoglobina; además (en vivo) aparece por la acción de varios venenos de la serie aromática (anilina, toluidina, acetanilida, cairina, talina, pirodina, azul de metileno), de los nitritos, del clorato potásico, etc. La metahemoglobina no sirve para los cambios respiratorios porque el O_2 está fijado demasiado fuertemente y por esto no es cedido a los tejidos, por lo cual en el envenenamiento con formación de metahemoglobina existe un mecanismo patógeno semejante al que se observa en las intoxicaciones por el CO, es decir, el sufrimiento o la muerte por ausencia de la fun-

ción del pigmento respiratorio normal, con su exquisita capacidad para la oxidación y reducción sucesivas.

El oxígeno de la metahemoglobina no es desalojado por el CO ni por la acción del vacío ; sin embargo, puede serlo por los reductores que, como el sulfuro amónico, transforman la metahemoglobina en Hb, sin productos intermedios (1), y por el HCN en presencia de cuyo gas la metahemoglobina se transforma en cianhemoglobina. La metahemoglobina es negra, color de café o sepia ; la acción del HCN tiene valor diagnóstico porque hace aparecer el color rojo de la cianhemoglobina. El alcohol transforma la metahemoglobina en catahemoglobina, también de color rojo (en esto se fundan los métodos — tipo KAISERLING — para la conservación de piezas anatómicas con el color natural de la sangre : acción del formol que transforma la Hb en metahemoglobina y luego del alcohol que hace recobrar un color rojo parecido al original). QUAGLIARIELLO niega la transformación de la metahemoglobina en oxihemoglobina por la acción de los álcalis (2). La metahemoglobina también cristaliza. Parece que ésta es la verdadera forma definitiva y estable de oxidación de la Hb y, efectivamente, se forma casi siempre por la acción del O_2 sobre este cromoproteido, excepto en los hematíes, en los cuales deben darse condiciones particulares, quizás relacionadas con el estado coloidal, para que la oxidación de la Hb se haga exclusivamente en forma de HbO_2 u óxido lábil. Parece que en la metahemoglobina el Fe es trivalente, y entonces tendríamos esta constitución del grupo ferruginoso :

$$\begin{matrix} >N \\ >N \end{matrix} > Fe - OH \; ;$$

mientras que la fórmula de la oxihemoglobina sería HbO_2, la de la metahemoglobina sería HbOH, y por lo tanto, el oxígeno estaría contenido en forma de hidroxilos.

Mas, no todos están de acuerdo en este punto y algunos tienden a admitir la fórmula HbO en vez de HbOH. De todos modos parece comprobado por los trabajos recientes de QUAGLIARIELLO (3), que la metahemoglobina contiene una cantidad de oxígeno que es mitad de la que posee la oxihemoglobina. Puede representarse con esta fórmula la transformación de la oxihemoglobina en metahemoglobina por medio del ferricianuro potásico y la liberación completa del O_2 unido lábilmente :

$$HbO_2 + K_3FeCy_6 + H_2O = HbOH + O_2 + K_3HFeCy_6$$

En esta reacción se funda el método de BARCROFT-HALDANE para dosificar el oxígeno lábil de la sangre.

(1) Véase QUAGLIARIELLO, *Arch. Scienze. biol.*, vol. III, fasc. 3, 1922.
(2) *Arch. Scienze biol.*, vol. III, fasc. 1-2, 1922.
(3) *Arch. Scienze biol.*, vol. V, 1923.

La composición centesimal de la metahemoglobina es igual a la de la Hb ; quizás en ésta dominan las funciones ácidas. El espectro de absorción es complicado : véase la obra de QUAGLIARIELLO ya citada.

El núcleo cromático de la metahemoglobina es la *hematina*, pero, como ya se ha dicho, también de la HbO_2 por la acción de los agentes de escisión, jugos digestivos, cocción, se forma hematina, de tal modo que durante mucho tiempo se ha creído que la hematina representaba el núcleo cromático ferruginoso de la HbO_2, mientras que actualmente se admite que en la HbO_2 hay un peróxido del hemocromógeno. De todos modos los agentes dichos oxidan primero la oxihemoglobina convirtiéndola en metahemoglobina ; al desintegrarse ésta, da hematina, de color pardo (color pardo de la carne cocida, color negruzco de las heces por hemorragias gástricas o intestinales o por ingestión de alimentos sanguinolentos). La hematina es insoluble en agua, soluble en ácidos y álcalis. Es un ácido con dos carboxilos ; los ácidos *fuertes* la transforman en hematoporfirina, perdiendo el Fe (véase más adelante). Espectro característico en solución ácida. No cristaliza. La hematina tiene, pues, el grupo >Fe—OH de la metahemoglobina, y el hidroxilo puede ser sustituído por Cl cuando la hematina se trata con HCl : entonces se tiene : > Fe — Cl o *clorhidrato de hematina*, llamado también *clorohemina*. En general, se llaman *heminas* las sales de la hematina con los halógenos. La clorohemina se obtiene fácilmente de la sangre, calentando un poco de ésta (colocada en un portaobjetos) con NaCl y ácido acético : aparece entonces en forma de los conocidos cristales de TEICHMANN, que tienen importancia para el reconocimiento de la sangre (cristales rómbicos, alargados, birrefringentes y pardos). La hemina con los álcalis vuelve a regenerar la hematina.

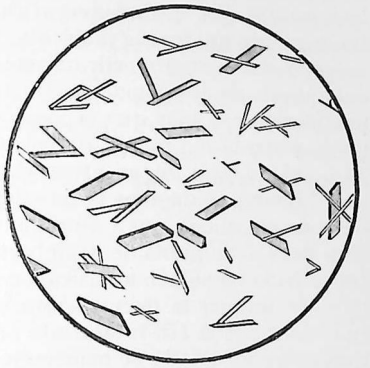


FIG. 6. Cristales de clorohemina o clorhidrato de hematina.

Parece que no todas las hematinas son absolutamente iguales : la debida a la acción de los jugos digestivos (α-hematina) es un poco distinta de las otras.

Los agentes reductores, como el sulfuro amónico, transforman la hematina en hemocromógeno, pero no así el vacío : esto demuestra que realmente el oxígeno está unido con bastante firmeza, como en la metahemoglobina, y no débilmente como en la HbO_2, y justifica el esquema antes transcrito.

Tratando una solución de hemoglobina por otra de hidracina al 5 % en hidrato sódico al 10 %, o sea mediante escisión por álcalis en

presencia de agentes reductores, se obtiene el *hemocromógeno* cristalizable, de color rojo cereza, insoluble en agua, pero soluble en los álcalis por su carácter claramente ácido. El hemocromógeno se oxida pronto en contacto del aire, tomando el color pardo de la hematina. Posee un espectro muy característico : una raya en el amarillo verde, entre la D y la E, y otra menos clara cerca de la E (aproximadamente $\lambda = 559$ y $\lambda = 525$) ; puede servir mucho mejor que el espectro de la hemoglobina para la investigación de la sangre.

Tratando la hematina con *ácidos enérgicos*, o también el hemocromógeno con *ácidos débiles*, se obtiene un producto *exento de Fe* que es la *hematoporfirina*. Podemos afirmar, por lo tanto, que el Fe está más fuertemente unido a la molécula de la hematina que a la del hemocromógeno. La hematoporfirina puede volver a adquirir Fe y regenerar cualquiera de los pigmentos ferruginosos ; por lo tanto, la hematoporfirina no es más que la molécula siempre intacta del hemocromógeno, privada del metal. Parece que la fórmula de la hematoporfirina es $C_{33}H_{36}N_4O_6$ o, según otros, $C_{34}H_{39}N_4O_7$, o bien, $C_{34}H_{38}N_4O_6$; tiene una función ácida (dos carboxilos) y una básica debida a los cuatro núcleos pirrólicos, cuya alcalinidad queda libre a causa de la separación del Fe. Se habla de hematoporfirina en solución ácida y de hematoporfirina en solución básica, con espectros diferentes. Un modo sencillo de obtener la primera, consiste en tomar sangre en putrefacción (que contiene la Hb totalmente reducida y, por lo tanto, con el núcleo cromático en estado de hemocromógeno y más apto para perder el Fe) y mezclar un par de gotas de ella con algunos centímetros cúbicos de ácido sulfúrico concentrado : color púrpura bastante característico, espectro con una banda en $\lambda = 600$ y en $\lambda = 654$.

El clorhidrato de hematoporfirina forma hermosos cristales romboidales, alargadísimos y afilados. Se conoce también la *hemoporfirina* ($C_{33}H_{36}N_4O_4$) preparada por reducción de la hematoporfirina (Willstaetter) ; la *mesoporfirina* de Nencki y Zaleski que es también un producto de reducción (fórmula probable : $C_{33}H_{38}N_4O_4$: Thannhauser y Zoia (1) formulan las porfirinas con 34 C).

La hematoporfirina se ha encontrado en el organismo, pero bajo formas un poco distintas : en la orina en casos de hematoporfirinuria se encuentra $C_{40}H_{36}N_4O_{16}$; y en las heces y alguna vez también en la orina : $C_{36}H_{36}N_4O_8$.

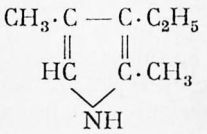
El proceso de eliminación del átomo de hierro del núcleo cromático de la hemoglobina se verifica, pues, también *in vivo*. Además, como luego veremos, si normalmente se producen cantidades escasas o mínimas de porfirinas verdaderas y sólo por alteraciones oscuras del metabolismo y en ciertos envenenamientos (sulfonal) aparecen cantidades mayores de porfirinas verdaderas (que obran como *foto-*

(1) Zoia, que es un benemérito del estudio del metabolismo hemoglobínico, ha publicado recientemente un resumen completo sobre este tema : *La itterizie* (*Attual. scient.*, Cappelli, Bolonia, 1923).

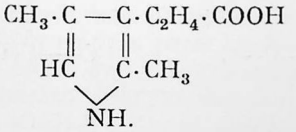
sensibilizadores), por un proceso de esta naturaleza se obtiene normalmente la formación del pigmento biliar, la bilirrubina, que es muy parecida a la hematoporfirina, y según algunos sólo un isómero de ella.

Tratando la hematoporfirina con cal sodada, se le priva de los carboxilos y se obtiene la *etioporfirina*, $C_{31}H_{36}N_4$, que representa el núcleo fundamental, de anillo pirrólico, de todos estos compuestos.

¿Cuál es la verdadera estructura íntima de estos grupos cromáticos? Los estudios de Piloty, Hans Fischer y Küster sobre los pigmentos hemáticos y los de Willstaetter sobre la clorofila, que es fabricada por los vegetales con los mismos materiales elementales (núcleo pirrólico) con que los animales superiores forman la hemoglobina, han aclarado bastante este punto. En efecto, se ha demostrado que la hemina, con agentes reductores enérgicos (ácido yodhídrico y yodofosfórico) y también la hematoporfirina por reducción mediante $SnCl_2$ y estaño metálico en HCl fumante, dan origen (1) al llamado *hemopirrol*, un aceite volátil de olor penetrante que es una mezcla de diversos pirroles alquilsustituídos y de los ácidos pirrolcarbónicos correspondientes : por ejemplo, abunda el dimetiletilpirrol :

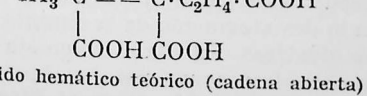


y el ácido pirrolcarbónico correspondiente :



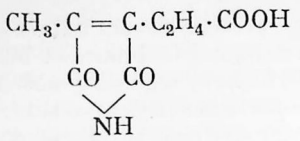
Una molécula de hemina o de hematoporfirina no da más que dos moléculas de pirrol diversamente alquilsustituído y dos moléculas de ácido pirrolcarbónico ; contiene, pues, en total 4 núcleos pirrólicos.

Por otra parte Küster ha visto que por medio de agentes oxidantes la hematina da origen a un ácido hemático, tribásico, que aparece al principio como imida (una molécula de NH_3 combinada con dos carboxilos, con eliminación de una molécula de agua) y luego (acción de los álcalis, eliminación de NH_3) como anhídrido parcial :

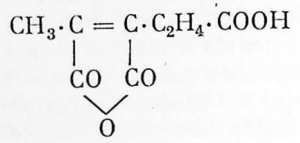


Ácido hemático teórico (cadena abierta)

(1) Piloty, *Ann. der Chemie*, 366-375.



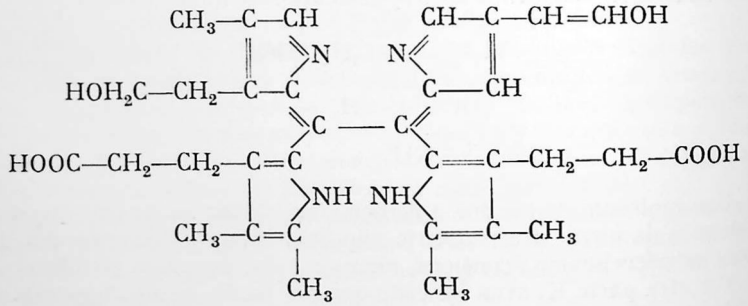
Imida del ácido hemático



Anhídrido del ácido hemático

Se ve que el ácido hemático y su derivado imídico representan únicamente productos de oxidación (en correspondencia con los átomos de C más vecinos al grupo NH o α-carbonos) del ácido pirrolcarbónico que subsiste en la molécula de hematina. Como cada molécula de hematina da dos de ácido hemático o de su imida, vemos comprobado lo que se ha visto que podía deducirse de la escisión reductora del pigmento, esto es, que su molécula contiene dos núcleos de ácidos pirrolcarbónicos, junto con otros dos pirrolalcohólicos.

Según estos estudios recientes, la hematoporfirina tendría la siguiente fórmula desarrollada :



La *etioporfirina* sería este mismo compuesto privado de los hidroxilos y carboxilos presentes y, por lo tanto, exento de O, según la fórmula empírica que hemos dado anteriormente ; por introducción de dos carboxilos en la etioporfirina tendremos la mesoporfirina, y por hidroxilación consecutiva la hematoporfirina.

Ahora bien : en la desintegración de la *clorofila* se llega a compuestos completamente idénticos. En ella el magnesio sustituye al hierro, o sea que también encontramos un metal en la molécula de este pigmento vegetal. Sustrayendo el Mg queda la filoporfirina, análoga a

la hematoporfirina, y por reducción se puede llegar a la etioporfirina igual al complejo no oxigenado de cnatro núcleos pirrólicos, que deriva de la hemoglobina (1). Así, pues, la Naturaleza construye estos dos importantísimos pigmentos destinados a altas funciones biológicas (respiración y asimilación foto-sintética del carbono) a base del pirrol y de sus derivados carboxálicos.

2. *Pigmentos biliares y otros derivados.* — Representan unos derivados de la hemoglobina, muy próximos a la hematoporfirina, exentos como ésta de hierro, y con el mismo esqueleto fundamental de 4 anillos pirrólicos ; parece que están más oxidados que la porfirina, o sea que contienen más O y menos H (según los autores y fórmulas admitidos). Pero no son retransformables en pigmento hemático, no pudiéndoseles hacer fijar Fe artificialmente. No son bien conocidos los productos intermediarios que conducen desde el cromógeno de la sangre a los pigmentos dichos. Según las conclusiones de TANNHAUSER (2) el pigmento biliar principal o bilirrubina se forma por oxidación del núcleo constituído por los cuatro anillos pirrólicos, mientras que el paso del cromógeno hemático a la porfirina implica sólo la oxidación de las cadenas laterales. En efecto, parece que la bilirrubina lleva hidroxilos enlazados a los dos anillos pirrólicos. De todos modos los pigmentos biliares representan en el organismo un producto terminal del metabolismo de la hemoglobina o, por decirlo mejor, del grupo cromático de ésta : la célula hepática, y quizás también las células de otros lugares del organismo (aparato retículo-endotelial de ASCHOFF), tienen la propiedad de fijar el núcleo cromático de la Hb puesta en libertad por la destrucción de los glóbulos rojos, destrucción fisiológica continua y exagerada en ciertos estados patológicos. Estos núcleos cromáticos se transforman, eliminan el hierro, que es almacenado de distintos modos y en gran parte vuelto a aprovechar, y forman los pigmentos sin hierro que son principalmente eliminados por las vías biliares. El pigmento biliar fundamental y primeramente formado es la bilirrubina ($C_{33}H_{36}N_4O_6$) : en individuos con fístula biliar se ha visto que se segrega diariamente cerca de $^1/_2$ gramo de este pigmento, y como éste no puede derivar más que del núcleo cromático (hemocromógeno) de la Hb y éste representa apenas el 5 % del peso de toda la molécula de Hb, resulta que para producir aquella cantidad de bilirrubina deben destruirse aproximadamente unos 10 gr. de hemoglobina y, como ésta constituye cerca del 14 % de la sangre, son necesarios unos 80 gr. de sangre para proporcionar con sus glóbulos rojos la bilirrubina cotidiana.

Puede prepararse la bilirrubina partiendo de los cálculos biliares y puede también cristalizarse. Es un pigmento oscuro, que da reacciones coloreadas con los compuestos diazoicos : por esto da la diazo-

(1) Véanse para las relaciones estructurales entre hemoglobina y clorofila : WILLSTAETTER, *Journ. Amer. chem. Soc.*, vol. XXXVII, 1915.
(2) *Klin. Woch.*, 1922, n.° 17.

reacción de EHRLICH (color rojo intenso de la espuma por tratamiento con el diazoreactivo clásico) utilizada para investigarla en el suero de la sangre (normalmente también se encuentran indicios : bilirrubinemia normal) como diremos en la Parte II, sección II.

La hematoidina, pigmento cristalino que se puede encontrar en los tejidos donde se ha extravasado sangre, es parecida a la bilirrubina, pero no es segura su perfecta *identidad* : efectivamente, según THANNHAUSER, la hematoidina no da la diazo-reacción que caracteriza a la bilirrubina, y algunos han encontrado valores cristalográficos distintos para estos dos pigmentos (ZOIA, por el contrario, ha obtenido la identidad cristalográfica en una observación). Hay además otro pigmento, muy distinto de todos los anteriores, que es la *hemosiderina*, substancia granular amorfa que da las reacciones histoquímicas del Fe y que aparece siempre que los pigmentos ferruginosos son desintegrados en los focos de hemorragia en los procesos de *siderosis* (malaria, escorbuto, anemias perniciosas) de los órganos, etc. Probablemente la hemosiderina no es más que una combinación débil del Fe con complejos proteicos.

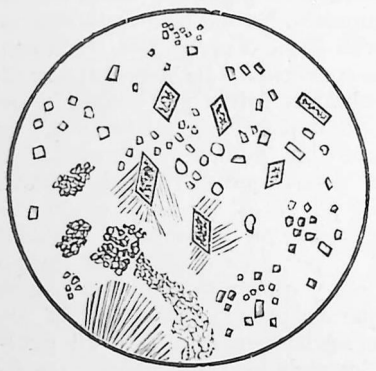


FIG. 7. Cristales de hematoidina.

Por oxidación de la bilirrubina, por ejemplo en el intestino de los niños de pecho o *in vitro*, se forman la *biliverdina* (verde, no cristalizable) y otros derivados no bien definidos de distintos colores, como la *coleprasina* y la *biliprasina* verdes, la *colecianina* azul, un pigmento rojo y la *coletelina* pardo amarillenta, substancias todas ellas que no están bien caracterizadas, que es más probable que sean mezclas y no productos puros e individualizados. *La prueba de* GMELIN para investigar los pigmentos biliares se funda precisamente en el hecho de que una ligera oxidación del pigmento fundamental (bilirrubina) hace aparecer toda una escala de colores (verde, azul, amarillo, etc.) debido a que se forman sucesivamente todos estos derivados. Esta prueba se practica disponiendo debajo de la solución de pigmentos biliares (por ejemplo : orina colúrica) una capa de ácido nítrico con ácido nitroso o de ácido nítrico-nitroso : en la zona de contacto se forman anillos coloreados, primero verde, luego azul, etc. Los demás oxidantes (yodo, sales mercúricas) tienen también la misma propiedad de transformar la bilirrubina en el derivado verde más oxidado, de donde se han deducido varias reacciones prácticas. Recordemos también la *reacción de* SABATINI con HCl y $NaNO_2$, utilizable también para la investigación de la bilirrubina en el suero sanguíneo (1).

(1) *Policl.*, Sez. prat., 1922.

En la bilis y, por consiguiente, también en las heces de los herbívoros, se encuentran pigmentos de origen vegetal (derivados de la clorofila de los alimentos, atacada y elaborada quizás por el hígado, eliminándose los productos terminales por las vías biliares) : *bilipurpurina* o *colehematina* de la bilis de buey y *filoeritrina* de las heces del buey.

Por oxidación de la bilirrubina con ácido crómico se obtiene *ácido hemático* igual como sucede con la hematina, y por reducción enérgica del mismo pigmento biliar resulta hemopirrol : esto demuestra la estructura pirrólica del pigmento que, como se ve en la fórmula empírica, se asemeja mucho a las porfirinas.

En las heces y orina se encuentran derivados consecutivos de los pigmentos biliares, que comunican a las primeras su color normal, y en la segunda representan un elemento cromático escaso o nulo normalmente, pero que puede acentuarse en ciertas condiciones patológicas : se trata de los pigmentos llamados *estercobilina* (en las heces) y *urobilina* y *urobilinógeno* en la orina. Parece que la estercobilina y la urobilina son una misma cosa.

Actualmente se ha conseguido obtener artificialmente una serie de derivados de la bilirrubina de la manera siguiente :

Con el paladio hidrogenado se transforma la bilirrubina en *mesobilirrubina* (cristales aciculares amarillos) : $C_{33}H_{40}N_4O_6$. Por posterior reducción con amalgama de sodio se obtiene la *hemibilirrubina, mesobilirrubinógeno, uribilinógeno* o *bilinógeno* en cristales incoloros, que es la leucobase de la mesobilirrubina, de fórmula : $C_{33}H_{44}N_4O_6$. Por oxidación de ésta se vuelve a la mesobilirrubina, pero por un proceso que algunos consideran como simplemente oxidante y otros como más complejo (de todos modos se verifica también espontáneamente en contacto del aire), se llega a la urobilina y estercobilina. La estercobilina falta en las heces cuando la bilis no llega al intestino por obstrucción de las vías biliares, pero puede también faltar y ser sustituída por los pigmentos biliares originales cuando las heces son eliminadas tan rápidamente que no dan tiempo a la transformación de estos pigmentos en estercobilina ; por lo tanto, todo conduce a pensar que ésta se forma en el intestino y parece que es la acción fundamentalmente reductora de las bacterias intestinales la que transforma la bilirrubina en estercobilina o urobilina. Esta, pues, reabsorbiéndose y pasando a la circulación como tal o como leucobase (urobilinógeno) en gran parte, parece que es detenida por el hígado que la vuelve con la bilis al intestino (círculo enterohepático), pero parte de ella escapa (esta porción es más notable en las lesiones tóxicas del hígado, en las hepatopatías distintas y en la misma fiebre) y por lo tanto aparece en la orina. Débese a RIVA y a ZOIA (1) el haber demostrado que la determinación del urobilinógeno y de la urobilina en las heces y la orina proporciona un buen elemento de juicio acerca de los procesos desintegrati-

(1) Véase monografía citada de estos autores, y *Atti Congr. Med. Intern.*, 1922.

vos del pigmento hemático en el organismo para producir pigmentos biliares. La urobilina es soluble en el agua, amorfa, de composición muy poco conocida ; probablemente no hay una sola urobilina sino *varias*, y así algunos consideran las urobilinas derivadas de las porfirinas separadamente de la que procede de la bilirrubina. Nos encontramos, pues, con toda probabilidad frente a una categoría de compuestos, de derivación colo-hemática, que investigaciones posteriores definirán mejor. La urobilina en polvo, es parda ; sus disoluciones son rojizas o amarillentas, casi incoloras cuando son ácidas. Son reacciones características suyas : la fluorescencia verde con $ZnCl_2$ (en solución de urobilina ligeramente amoniacal), el espectro de absorción bastante característico, y la reacción roja de EHRLICH con el p-dimetilaminobenzaldehido (urobilina en solución ácida) que no debe confundirse con la diazo-reacción que presentan los pigmentos biliares. Parece que la reacción roja con el p-dimetilaminobenzaldehído es más propia del urobilinógeno o mesobilirrubina que de la urobilina verdadera (sin embargo, en la orina se presenta siempre la primera cuando existe la segunda, y generalmente esta última se forma antes). Las urobilinas de las porfirinas no darían la reacción de EHRLICH, que por lo demás no tiene nada de específica, pues también la dan el triptófano y todos los cuerpos que tienen un grupo NH en el anillo pirrólico con un CH, por lo menos, no sustituído.

Podremos pues trazar el siguiente esquema (según LAMBLING, aunque algo modificado) :

Por reducción progresiva

Bilirrubina : $C_{33}H_{36}N_4O_6$

↓

Mesobilirrubina : $C_{33}R_{40}N_4O_6$

↓

Mesobilirrubinógeno, bilinógeno o urobilinógeno : $C_{33}H_{44}N_4O_6$ (leucobase incolora — da la reacción de Ehrlich con *p*-amino-benzaldehido → urobilina (da la reacción con el cloruro de zinc).

3. *Hemocianina.* — Algunos animales (ciertos moluscos o crustáceos) tienen sangre de color blanco azulado o que pasa desde casi incolora a claramente azul en contacto del aire, como ya habían observado antiguos naturalistas.

Las investigaciones fundamentales de FREDERICQ han demostrado que en la sangre de estos animales existe un cromoproteido especial, que contiene cobre, llamado *hemocianina*. Los datos históricos sobre la hemocianina de la sangre y las nociones acerca de su función y composición han sido recogidos por QUAGLIARIELLO (1).

La hemocianina se encuentra disuelta en el plasma de muchos lamelibranquios, gasterópodos y de todos los cefalópodos, entre los

(1) *Wintersteiner's Handb. d. vergleichenden Physiol.*, vol. I, Jena, 1922 ; y en *Naturwissenschaften*, fasc. 14, 1923.

moluscos ; entre los artrópodos sólo se halla la sangre en los crustáceos más elevados y del *Limulus*, quizás también en ciertos arácnidos. En el plasma de los artrópodos la hemocianina está disuelta junto con el fibrinógeno ; sería el único cuerpo proteico del plasma de los moluscos, del cual se puede obtener fácilmente por diálisis, que separa las sales, los cuerpos nitrogenados no proteicos, etc.

La hemocianina es incolora ; sin embargo se vuelve azul transformándose en contacto del oxígeno del aire en oxihemocianina. En esta forma cristaliza en cristales azules, de forma variada según sea más o menos rica en agua de cristalización o de imbibición.

El análisis elemental de la hemocianina da los siguientes resultados, comparados con los del análisis de la hemoglobina, con la cual es afín :

	C	H	O	N	S	Fe	Cu
Hemoglobina (perro)	54,57	7,11	21,36	17,38	0,568	0,366	
Hemocianina (*Octopus*)	53,66	7,31	21,68	16,09	0,86	—	0,38

V. SLYKE da, en el cuadro siguiente, los valores de las distintas fracciones nitrogenadas de la hemocianina del *Limulus*, obtenidas por la hidrólisis con ácidos, siempre en comparación con la hemoglobina :

	Hemocianina	Hemoglobina (buey)
N amoniacal	5,99	5,24
N melanínico	1,65	3,6
N de la cistina	0,80	—
N de la arginina	15,73	7,7
N de la histidina	13,23	12,7
N de la lisina	8,49	10,9
N amínico del filtrado	51,30	57
N no amínico del filtrado (prolina, oxiprolina, 1/2 triptófano)	3,80	2,9

La hemocianina, como la hemoglobina, es muy rica en aminoácidos básicos (arginina, lisina, histidina) ; ambas se parecen a las histonas en su porción proteica. Existen en su molécula varios grupos aromáticos.

El cobre está contenido siempre en la hemocianina : la sangre de las distintas especies zoológicas contiene del 1 % (*Maia*, un crustáceo) al 9 % (*Octopus*, un cefalópodo). Parece que el Cu está unido a la molécula de la hemocianina con núcleos pirrólicos, como el Fe de la hemoglobina ; pero hay también quien opina que el Cu se encuentra en forma de un albuminato de Cu, aduciendo en prueba de esto la facilidad con que se separa el Cu de la hemocianina, cosa que no sucede con el Fe de la hemoglobina. Es cierto que el Cu está unido en la hemocianina más débilmente que el Fe en el pigmento de los vertebrados. La hemocianina es insoluble en agua en ausencia de electrólitos ; se coagula a 70°. Observada al espectroscopio presenta una

raya distinta en el amarillo ($\lambda = 579\mu\mu$ en los moluscos, $\lambda = 563\mu\mu$ en los artrópodos) e indicios de otra raya en el azul ; la primera debe estar en relación con la proporción de Cu. La hemocianina se comporta en el campo eléctrico como un coloide electronegativo (emigra hacia el ánodo), pero en presencia de ácido (añadido hasta que el precipitado que se forma, se disuelva) se vuelve positivo ; es, pues, un electrólito anfótero, como todas las proteínas.

El punto isoeléctrico, esto es, la concentración de los H iones en la cual no hay ninguna emigración, o sólo muy pequeña, hacia el ánodo y el cátodo, corresponde a $(H^{\cdot}) = 2{,}1 \times 10^{-5}$, esto es, a pH=4,7. La constante de disociación ácida de la hemocianina es notablemente superior a la constante de disociación básica ; por lo tanto, puede decirse que la hemocianina tiene un carácter más ácido que básico, y en la sangre, según Quagliariello se encuentra en forma de sal alcalina (hemocianato de K o Na).

La hemocianina descompone el agua oxigenada y reduce el permanganato.

La oxihemocianina (azul) representa una combinación muy lábil de la hemocianina con el O_2. El CO_2 expulsa el O_2 y decolora la oxihemocianina más fácilmente que otro gas indiferente, porque obra como ácido substrayendo el álcali a la hemocianina, que precipita.

El CO también decolora la oxihemocianina, pero ésta se regenera pronto en presencia de O_2, de lo cual puede deducirse que la combinación CO + hemocianina es bastante lábil, si es que se forma, en comparación con la combinación CO + hemoglobina : efectivamente para los moluscos y crustáceos el CO no es tóxico. Los cianuros decoloran la oxihemocianina porque forman una cianhemocianina. No se conoce ninguna metahemocianina, correspondiente a la metahemoglobina.

La capacidad de fijación del O_2 por la hemocianina es de unos 0,42 c. c. de O_2 por gramo del proteido, a 15° y a la presión atmosférica (por lo tanto, cerca de $^1/_3$ de la que posee la hemoglobina, la cual fija 1,34 c. c. de O_2 por gramo).

La oxihemocianina se disocia fácilmente, liberando O_2 en presencia de bajas tensiones parciales de este gas y a una temperatura de 40° ; por el contrario, a 15° aproximadamente, temperatura correspondiente a la media de los animales marinos cuya sangre contiene hemocianina, la disociación no es tan fácil, y finalmente a una tensión de O_2 equivalente a 0,02 mm. de Hg, no es apreciable (Bottazzi).

¿ Cómo puede, pues, realizarse la función respiratoria de este proteido ?

Se verifica esencialmente en virtud de los cambios de reacción de la sangre. En los tejidos ésta es más ácida por la presencia de productos catabólicos, entre los cuales se encuentra principalmente el CO_2 (mejor : H_2CO_3), y entonces la hemocianina disminuye su avidez por el oxígeno ; por el contrario, en las venas branquiales, en donde el CO_2 es eliminado al exterior y la reacción de la sangre se inclina más

hacia la alcalinidad, la hemocianina está más disociada y en condiciones de fijar mayor cantidad de O_2. Por lo demás este mecanismo, basado en la diversa avidez del cromoproteido para el O_2 según la reacción del medio (determinada en gran parte por el CO_2), influye también en parte en la función respiratoria de la hemoglobina.

Según investigaciones antiguas y modernas (véase Dungern, Schmidt) la hemocianina tendría propiedades antígenas ; daría lugar a la formación de precipitinas y anticuerpos fijadores del complemento, cuando se inyecta al conejo, cobayo, etc. La hemocianina de los moluscos sería, como antígeno, diversa de la de los artrópodos, ya que los anticuerpos obtenidos con la una obran sobre la otra.

No está bien demostrado todavía si la hemocianina es verdaderamente la única proteína presente en el protoplasma de los animales en cuestión y si el citado poder antigénico es debido precisamente al cromoproteido o a impurezas proteicas. Hay que tener en cuenta que la sangre de los invertebrados circula por sistemas lacunares, y que con facilidad pueden pasar de los tejidos al líquido circulante productos proteicos o derivados proteicos de alta complejidad, dotados todavía de poder antigénico ; ambas cosas obligan a mostrarse muy cauto en admitir un acentuado poder antigénico propio de la hemocianina, tal como podría deducirse de los experimentos citados.

La hemocianina es tóxica para los mamíferos ; la de los moluscos lo es más que la de los crustáceos (para el cobayo y el perro).

Existen varios argumentos (diversidad de grupos antígenos, toxicidad diversa, distinta avidez para el O_2) para suponer que no existe una sola hemocianina, sino varias : por lo menos son distintas la de los cefalópodos y la de los crustáceos, pero probablemente existen diferenciaciones todavía más sutiles.

Es notable que en una misma clase, por ejemplo entre los lamelibranquios, existan animales con hemocianina y otros cuya sangre contiene hemoglobina.

h) Núcleoproteidos.

Los núcleoproteidos son proteidos con un grupo prostético importante y característico : el *ácido nucleínico*. Los núcleoproteidos forman parte esencial del núcleo celular, se encuentran en todas las células, aun en aquellas en las que no es evidente un núcleo bien diferenciado, como en las células bacterianas. Los más estudiados, son los núcleoproteidos de varios órganos animales, los del esperma de distintos peces, los de los blastomicetos (levaduras) y del grano de trigo. Los trabajos fundamentales son los de Levene y colaboradores (1), de Steu-

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XII y siguientes ; *Ber. d. chem. Gesellsch.* vol. XLII, XLIII, XLIV y siguientes.

DEL (1), de NEUBERG (2), además de los más antiguos de ALTMANN y de KOSSEL.

La parte proteica de los núcleoproteidos no parece que tenga nada de particular; es el grupo prostético, el ácido nucleínico, el que requiere una descripción especial.

Los núcleoproteidos son, en estado de relativa pero nunca absoluta pureza, polvos blanquecinos, solubles en agua pura y, mejor en los álcalis diluídos, insolubles en alcohol y éter. Son dextrógiros, se coagulan por el calor y dan las reacciones coloreadas propias de los albuminoides. Los ácidos los precipitan de sus disoluciones alcalinas, y un método para obtenerlos y purificarlos consiste precisamente en extraerlos o disolverlos con álcali y precipitarlos con ácidos diluídos. Un exceso de ácido los disuelve también, desnaturalizándolos más o menos.

La parte proteica está constituída por protaminas en los núcleoproteidos más sencillos de la cabeza de los espermatozoides de muchos peces; o por histonas en la cabeza de los espermatozoides de otros (bacalao) en los espermatozoides de un erizo de mar *(Arbacia)*, en los leucocitos del timo (núcleohistona tímica), y por proteínas ordinarias en todos los demás núcleoproteidos.

La unión entre la proteína y el ácido nucleínico es probablemente una verdadera unión salina y se realiza entre los grupos amínicos libres de la proteína y los grupos ácidos libres del ácido nucleínico. En realidad el ácido nucleínico forma verdaderos precipitados con las proteínas (nucleinato de proteína) que tienen algunos de los caracteres de los núcleoproteidos de los órganos, pero esto no excluye que existan también factores puramente coloidales que contribuyan a unir la porción albuminoidea con el complicado núcleo prostético.

Sea como fuere, el compuesto de la proteína con el ácido nucleínico, y por lo tanto el núcleoproteido en conjunto, tiene siempre función ácida, según se desprende de la manera como hemos dicho que se comporta con los ácidos y bases diluídos.

Debemos recordar incidentalmente que la cromatina nuclear, constituída esencialmente por núcleoproteidos, es basófila, es decir, que se tiñe por los colores básicos de anilina (colores de tipo siempre salino, en los cuales un ácido inorgánico incoloro está combinado con un grupo orgánico complejo de función básica: clorhidrato de rosanilina o fucsina, clorhidrato de violeta de metilo, etc.). No parece que realmente sea todo el núcleoproteido el que fija el color, sino que tiene lugar una verdadera reacción por doble sustitución: nucleinato de proteína (es decir, núcleoproteido) + clorhidrato de violeta de metilo = nucleinato de violeta de metilo + clorhidrato de proteína. Lo que se tiñe, pues, según esta concepción no sería la parte proteica sino el ácido nucleínico.

(1) *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. XLIX y siguientes; resumen sintético reciente en *Klin. Woch.*, 1923, n.° 39.
(2) *Bioch. Zeitschr.*, últimos años.

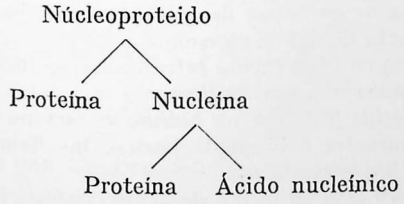
Sin embargo, no parece que se una a la cromatina todo el color que teóricamente debería fijarse según la doble sustitución, y que se podría calcular en función de la cantidad de ácido nucleínico (tetrabásico), sino bastante menos. Por otra parte, son innegables ciertos hechos de pura adsorción de los colorantes, y no parece verosímil que *toda* la coloración nuclear quede resumida en aquella reacción.

Los núcleoproteidos, si están relativamente purificados, no contienen otros elementos que los usuales en las proteínas y fósforo (0,5-1,7 %); no contienen hierro, pero éste se encuentra casi siempre como constituyente nuclear *(cariógeno de* MIESCHER) acompañando a los núcleoproteidos pero sin entrar en la composición molecular de éstos. El Fe nuclear explica quizás importantes funciones catalíticas, especialmente las oxidaciones que se desarrollan activamente en el núcleo; ya se sabe que también en Química inorgánica el hierro actúa frecuentemente como transportador de oxígeno, prestándose a fenómenos de oxidación muy importantes.

Los núcleoproteidos son complejos moleculares muy lábiles: influencias ligeras, como la ebullición con ácidos débiles diluídos o también con agua sola y la digestión clorhidropépsica, bastan para desprender el constituyente proteico, que es más o menos hidrolizado. Parece que los llamados β-núcleoproteidos son núcleoproteidos que han experimentado un primer proceso de disgregación del constituyente proteico (y efectivamente contiene menos C con relación al P, como si hubiesen sido eliminadas algunas cadenas de átomos de carbono).

Con la digestión clorhidropépsica se llega a una disgregación más avanzada del núcleoproteido, que es más o menos peptonizado: podría hablarse de una núcleopeptona, que sería la antigua nucleína de MIESCHER. Pero la digestión clorhidropépsica no lleva más allá la escisión de los núcleoproteidos; en cambio la digestión trípsica y otras acciones hidrolíticas más enérgicas consiguen liberar el grupo prostético (ácido nucleínico) del núcleoproteido.

El antiguo esquema de esta primera disgregación era el siguiente:



El núcleoproteido se dividiría, por la acción de la pepsina y HCl, en una proteína que sería peptonizada a su vez y un residuo que contiene un 5 % o más de P, inatacable por la pepsina, la *nucleína*; ésta, por digestión trípsica o por la acción de los álcalis, produciría el ácido

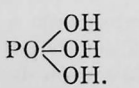
nucleínico libre y todavía un resto proteico o sus derivados. Pero la nucleína no existe preformada en la molécula, no tiene una individualidad propia, y el esquema anterior sólo expresa : 1.°, que el componente proteico no se separa del grupo prostético (ácido nucleínico) inmediatamente, sino de un modo gradual, como si resultase de fracciones unidas más o menos flojamente al grupo prostético mismo ; 2.°, que la digestión clorhidropépsica no hace más que iniciar la división de los dos componentes fundamentales, pero no llega a terminarla ; sólo la tripsina o el tratamiento con álcalis en caliente destruye todas las uniones entre proteína (que es completamente hidrolizada) y ácido nucleínico. Finalmente, la hidrólisis *total* subsiguiente con ácido sulfúrico diluído y caliente puede dividir el ácido nucleínico en sus fragmentos constitutivos que luego veremos ; también ciertas enzimas *(nucleasas* o *nucleoacidasas)* pueden realizar la escisión terminal del grupo prostético.

¿ Cuáles son los materiales constitutivos del ácido nucleínico y cuáles sus propiedades ? El ácido nucleínico puede prepararse (por ejemplo, del timo de ternera) por el siguiente método (KOSSEL-NEUMANN) : tritúrese *rápidamente* el tejido ; trátese con agua hirviente ligeramente acidulada con ácido acético para destruir al mismo tiempo las enzimas presentes en el tejido y capaces de escindir el ácido nucleínico ; complétese la trituración y dilúyase el material en un volumen dos veces mayor de solución al 1,6 % de NaOH con un 10 % de acetato sódico. Después se hierve durante dos horas, se neutraliza con ácido acético y se filtra. El filtrado, que contiene el ácido nucleínico disuelto (en forma de nucleinato sódico), se puede concentrar y precipitarlo con alcohol (tres partes de alcohol para una de filtrado). El producto obtenido se puede redisolver y precipitar de nuevo para purificarlo. El nucleinato sódico así preparado es soluble en agua ; la solución concentrada (5 %) obtenida en caliente se cuaja en jalea al enfriarse. Después de desecado es blanquecino, sin ningún olor especial. Su disolución precipita con una solución de proteína ligeramente acidulada ; $(\alpha)_D = +154°$. No cristaliza ; es un verdadero coloide. Hirviéndolo mucho tiempo con álcali, se transforma en una variedad β que ya no es capaz de gelificarse ; probablemente no es más que un producto inicial de escisión.

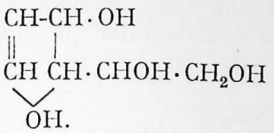
El ácido nucleínico libre (ácido tetrabásico) es inestable y se descompone en sus *materiales constitutivos.*

Estos son : el *ácido fosfórico,* un *hidrato de carbono* y unos cuerpos nitrogenados de carácter débilmente básico, las llamadas *bases púricas* o *purinas* y las *piramidinas.*

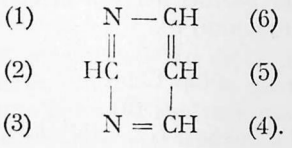
El *ácido fosfórico* está en forma de ácido *ortofosfórico :*



El *hidrato de carbono* contenido en la molécula del ácido nucleínico es una pentosa *(d-ribosa)* en los núcleoproteidos vegetales (levaduras, gramíneas) y en los núcleoproteidos simples del páncreas y del músculo ; en la mayoría de los núcleoproteidos animales es una hexosa, aun cuando recientemente FEULGEN haya creído poder sostener que el constituyente hidrocarbonado de los ácidos nucleínicos animales era el *glucal,* una especie de azúcar cíclico, constituído por un anillo furánico o mejor hidrofuránico, obtenido por E. FISCHER también por reducción de la glucosa, con la siguiente fórmula de estructura :

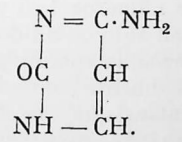


Las *pirimidinas* son derivados del núcleo carbonitrogenado de la pirimidina :

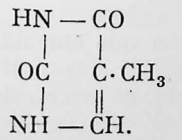


Son tres : la *timina,* la *citosina* y el *uracilo,* de las cuales sólo las dos primeras están preformadas en la molécula de la mayor parte de los núcleoproteidos ; el uracilo se origina *secundariamente* de las otras dos pirimidinas (pero el ácido nucleínico de las levaduras lo contiene preformado).

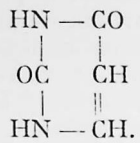
La *citosina* es una 2-oxi-6-aminopirimidina :



La *timina* es una 2-6-dioxi-5-5-metilpirimidina :



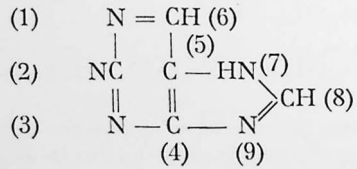
El *uracilo* es una 2-6-dioxipirimidina :



Todas estas bases pirimídicas han sido obtenidas por síntesis. Por oxidación mediante HNO_2, la citosina se transforma fácilmente en uracilo. Son cuerpos cristalizables, solubles en agua caliente, menos en la fría, poco en alcohol. Es notable que la timina, por oxidación, puede dar urea : $CO(NH_2)_2$.

Las pirimidinas son quizás como un primer período de la formación del núcleo carbonitrogenado más complejo de las purinas ; éstas podrían considerarse como constituídas fundamentalmente por el anillo pirimídico, al cual se ha soldado el complejo atómico de la urea.

Las *purinas* o *bases púricas* derivan efectivamente del siguiente núcleo *(purina de* E. Fischer) :



Para aclarar la génesis sintética de las bases púricas (en los pájaros) podemos observar que el anillo complejo de la purina podría resolverse también en *dos* moléculas de urea, unidas a una cadena corta de 3 átomos de carbono (la cual podría ser la del ácido láctico, etc.), señalados con los números 4, 5 y 6.

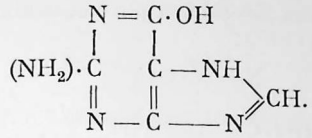
Las bases púricas, que han sido obtenidas por síntesis por E. Fischer, son la *guanina*, la *adenina*, la *xantina* y la *hipoxantina* ; de éstas, sólo las dos primeras están realmente contenidas en el ácido nucleínico de los núcleoproteidos, mientras que las últimas son productos de transformación de las primeras, que aparecen en el metabolismo intermediario por la acción de enzimas especiales.

El último término del metabolismo de estas bases púricas en el hombre, es el *ácido úrico*, y en muchos animales la *alantoína* que deriva del ácido úrico.

El ácido úrico también ha sido obtenido sintéticamente a partir de la glicocola y de la urea.

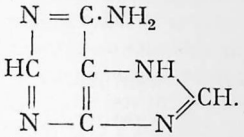
Veamos ahora la constitución precisa de todos estos cuerpos púricos :

La *guanina* es una 2-amino-6-oxipurina :



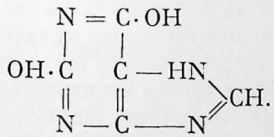
Se encuentra libre en las concreciones articulares de la *gota de guanina* del cerdo, en las escamas y vejiga natatoria de los peces. Es una base bastante fuerte, precipitable de las soluciones acuosas mediante NH_3.

La *adenina* es una 6-aminopurina :



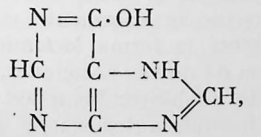
No es precipitable, mediante NH_3, de las soluciones acuosas. Es una base bastante fuerte, aun más que la guanina ; está incluída en casi todos los núcleoproteidos. Es notable que su fórmula empírica es $C_5N_5H_5 = 5CNH$, o sea, que corresponde a la de un producto de condensación del ácido cianhídrico.

La *xantina* es una 2-6-dioxipurina :



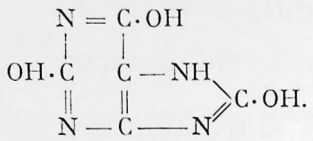
Debe su nombre al color amarillo que da cuando se calienta con HNO_3 en una cápsula de porcelana, color que, con NaOH, se vuelve rojo y luego purpúreo volviendo a calentar. Es débilmente básica pero también tiene carácter ácido (dos hidroxilos capaces de reaccionar con los metales).

La *hipoxantina* es una 6-oxipurina :

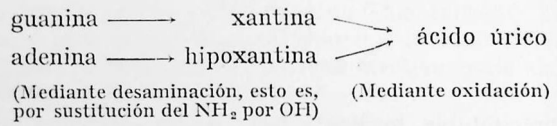


Fué llamada también *sarquina;* es una especie de xantina reducida, con un átomo menos de oxígeno.

El *ácido úrico* es una 2-6-8-trioxipurina, con la fórmula siguiente:



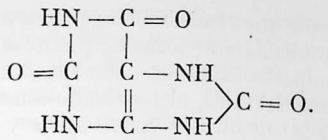
Nótese que las dos aminopurinas, guanina y adenina, se transforman fácilmente (en el organismo, como veremos, por acción de enzimas) en las dos oxipurinas, y éstas por oxidación en ácido úrico, de acuerdo precisamente con el esquema siguiente que el examen de las fórmulas aclarará:



Ya se ha hecho notar la mayor o menor alcalinidad de las purinas, que, sin embargo, va acompañada de una carácter ácido más o menos marcado, el cual predomina en el ácido úrico: todas las purinas, pues, aunque en grado diverso, tienen carácter *básico*, por la presencia de grupos amínicos o imínicos, y *ácido* por contener hidroxilos cuyo H puede ser sustituído por un metal.

Se unen, pues, con ácidos minerales (a excepción del ácido úrico), y forman sales con los metales, siendo las sales de los metales alcalinos generalmente solubles; las de los metales pesados insolubles (de donde el empleo del nitrato de plata amoniacal, del sulfato de cobre y de bisulfito y bicloruro de mercurio en Análisis químico para aislar las purinas). El ácido fosfotúngstico también precipita las purinas; lo mismo hace el ácido pícrico, a excepción de la xantina. Todas cristalizan.

El ácido úrico, presente en la orina de todos los vertebrados (la excreción de N en varios invertebrados adquiere también la forma de cuerpos púricos y ácido úrico), tiene la estructura química expresada por la fórmula antes dicha, pero también puede encontrarse en otra diversa. En efecto, además de la forma *lactímica* del ácido úrico, que es la que hemos mencionado anteriormente, con tres hidroxilos en las posiciones 2-6-8, se conoce la forma *lactámica*, que tiene un grupo cetónico CO en cada una de dichas posiciones, estando unidos los tres átomos de hidrógeno de los hidroxilos a los tres nitrógenos que no poseían ninguno en la fórmula anterior:



Las dos formas (tautómeras) son transformables reversiblemente una en otra, y es probable que en todas las soluciones de ácido úrico exista un equilibrio entre las dos formas.

La más estable y la menos soluble (incluso cuando está salificada) hacia la cual tiende el ácido úrico después de algunas horas de haber sido disuelto, es la forma lactímica.

La fórmula de estructura lactímica permite comprender la función ácida de este compuesto, pero aunque existan tres hidroxilos, parece que sólo dos pueden unirse a los metales, por lo cual sólo se producen dos series de sales: los *monouratos* o *uratos ácidos* y los *diuratos* o *uratos neutros*. Sólo los primeros se encuentran en el organismo como sales sódicas *(urato monosódico)*, porque el urato disódico está fuertemente disociado hidrolíticamente en urato ácido o monosódico e hidrato sódico (reacción claramente alcalina: sal de ácido débil y base enérgica) y el ácido carbónico, presente siempre en los líquidos orgánicos, se combina con el hidrato sódico y por lo tanto sólo deja subsistir el urato monosódico. Sólo tienen interés biológico los *monouratos* y, podemos añadir, los llamados *hemiuratos*, en los cuales habría un agregado de varias moléculas de ácido úrico con sólo una mitad salificada (son hemiuratos los *sedimentos de color de ladrillo* que se separan de las orinas).

Fórmula empírica del *monourato sódico:* $C_5H_3N_4O_3Na$.

Fórmula empírica del *hemiurato sódico:*

$$C_5H_3N_4O_3Na + C_5H_4N_4O_3.$$

El estudio de las leyes de solubilidad del ácido úrico ha sido hecho exactamente por His y Paul (1) y por Gudzent (2), pero estas leyes, si bien sirven para las verdaderas soluciones acuosas de esta substancia, tal como pueden prepararse *in vitro* con agua pura, quedan fuertemente enmascaradas por importantes fenómenos coloidales cuando se estudian las soluciones de ácido úrico en líquidos del organismo, como el suero de la sangre y la orina. En efecto, recordemos ante todo una ley, estudiada por Paul y Samec (3), según la cual los coloides disminuyen por una parte la solubilidad de las substancias bien solubles cuando éstas están muy concentradas y próximas al lí-

(1) *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. XXXI.
(2) *Id.*, vol. LVI, LX y LXIII.
(3) *Bioch. Zeitschr.*, vol. XVII, 1910.

mite de saturación porque, imbibiéndose más o menos, se apoderan en cierto modo de moléculas acuosas disponibles para la solución ; en cambio, por otro lado, los mismos coloides aumentan la solubilidad de los materiales poco solubles, absorbiendo iones en su amplia superficie y favoreciendo la disolución consecutiva y la disociación de las moléculas que habían permanecido inalteradas. En Biología son especialmente importantes las acciones de la segunda categoría, las que despliegan los coloides al aumentar la solubilidad, porque las de la primera no tienen ocasión frecuente de realizarse por referirse a grandes concentraciones. Bechhold y Ziegler (1) y Lichtwitz (2) han desarrollado estas leyes por lo que atañe especialmente al ácido úrico y a los uratos en los líquidos orgánicos. Así Bechhold y Ziegler han visto que un litro de suero mezclado con urato ácido de sodio, no disuelve a 37° más que 0,025 gr. de esta sal (otros admiten hasta 0,08 gr.), mientras que el agua a la misma temperarura disuelve 1,41 gr. por litro. Comparando el urato con el ácido úrico, encontraron que el primero es mucho menos soluble en el suero que el segundo, precisamente al revés de lo que sucede en el agua (3).

He aquí, pues, la acción reductora de la solubilidad de una sal relativamente soluble como el urato monosódico, en cuya acción, además de la presencia de los coloides, también toman parte los iones sódicos, abundantes en el suero que, por una ley conocida, reducen la escasa disociación del urato y, por lo tanto, su solubilidad. Por otra parte, los estudios de Schade y Boden (4) y de Schade (5), han demostrado qu el ácido úrico y los uratos tienen una gran tendencia a formar soluciones sobresaturadas en los líquidos orgánicos ; pero estas soluciones no son del tipo comúnmente conocido para muchas sales, en las que la *adición* de un cristalito de la misma sal produce la precipitación repentina de gran parte de la sal disuelta, sino de otro tipo especial, *por adopción de un estado coloidal por parte del mismo ácido úrico* y quizás de los uratos.

En realidad el estado coloidal es como una fase intermedia, que muchos cuerpos atraviesan para pasar del estado de solución verdadera al estado cristalino. Ahora bien, tal estado intermedio puede ser mantenido durante mucho tiempo por ciertas substancias, en forma de gotas grandes y pequeñas que se forman y quedan suspendidas, como en un verdadero emulsoide, y la presencia de otros coloides en el medio tiene una función *estabilizadora* de dicho estado transitorio

(1) *Bioch. Zeitschr.*, vol. XX-XXIV.
(2) *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. LXIV.
(3) Conviene citar estos datos de Bechhold y Ziegler :

Solubilidad del ácido úrico en el agua (a 37°)	1 : 15500
» » » » en el suero	1 : 1925
» » » » en el suero con sobresaturación	1 : 1100
» » urato monosódico (forma mixta) :	
en el agua	1 : 665
en el suero	1 : 40000

(4) *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. LXXXIII.
(5) *Zeitschr. f. Klin. Med.*, vol. XCIII, 1.

que por lo tanto queda *prolongado* ; éste es el proceso de la *estabilización coloidal intermediaria* según Schade (1).

También, según Schade, se encuentra en el campo coloidal la razón de un fenómeno, ya notado por Bechhold y Ziegler, por el cual el suero disuelve mucho mejor el ácido úrico que el monourato sódico, aunque éste sea mucho más soluble *en el agua* que el primero. Si se disuelven unos cuantos cristales de ácido úrico en solución diluída de hidrato sódico, se ve que primero se forman verdaderas gotitas flúidas en la superficie del ácido úrico cristalino, gotitas que tienden a confluir y formar una masa como gelatinosa y, agitando oportunamente, se puede hacer desaparecer poco a poco todo el ácido úrico, constituyendo una verdadera solución sobresaturada de urato ; se puede, en cierto modo, incorporar a la solución alcalina una cantidad de ácido úrico que corresponde a 10 y 11 veces la cantidad directamente soluble como urato ya formado.

Schade habla de *nacimiento coloidal*, como si muchas substancias al formarse adoptasen transitoriamente un estado coloidal que serviría para mantenerlas en estado de pseudosolución e impediría la precipitación cristalina. También se pueden incorporar al suero — dada su ligera alcalinidad constante (con formación continua de iones OH a medida que van siendo empleados) — cantidades notables de ácido úrico, que no serían solubles en agua según las leyes conocidas. El ácido úrico nos ofrece una demostración elegante de la existencia de dichos estados coloidales intermedios y de su estabilización, de aquellos fenómenos en virtud de los cuales los líquidos orgánicos pueden contener, sin dar lugar a precipitados, cantidades elevadas de materiales poco solubles.

Vista la constitución y las propiedades coloidales del ácido úrico (importantísimas para el problema de la gota) recordemos que el ácido úrico da las siguientes reacciones :

Reacción de la murexida (Weidel). Humedeciendo el ácido úrico en una cápsula de porcelana con pocas gotas de ácido nítrico y calentando al baño maría hasta sequedad, se obtiene una coloración rojiza ; si se deja enfriar y se humedece con NH_3 diluído, aparece un color rojo púrpura por la formación de murexida o purpurato de amonio ; con un poco de NaOH al 10 % se obtiene un color azul violeta que desaparece calentando. La guanina y la xantina dan un color amarillento con HNO_3, que luego se vuelve rojo con NaOH, pero el color no desaparece calentando.

Reacción de Schiff (2). Es muy sensible. Consiste en disolver un poco de ácido úrico en solución de carbonato sódico (el líquido ha de ser muy alcalino) y verter un poco de esta solución sobre un papel de filtro mojado con solución de nitrato de Ag : mancha

(1) Véase también su obra : *Physik. Chem. in d. inn. Med.*, Steinkopf, 1923.
(2) *Liebig's Annal.*, 109.

negra. Se ve, pues, que el ácido úrico reduce el nitrato de Ag en solución alcalina.

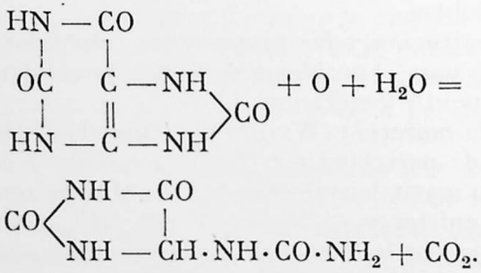
El ácido úrico en solución alcalina *reduce el ácido fosfotúngstico*, formando un óxido inferior de tungsteno, de *color azul:* en esto se basa el método cualitativo y cuantitativo de FOLIN.

El ácido úrico, como otras purinas, *es precipitado por la solución argéntica amoniacal:* disuélvase ácido úrico en solución de carbonato sódico y añádase un exceso de NH_3 y unas gotas de nitrato de Ag: se obtiene un precipitado blanco (combinación argéntica del ácido úrico). Esta reacción es el fundamento de algunos métodos cuantitativos (1).

El ácido úrico es muy poco soluble en forma libre. Se obtiene casi siempre acidulando las soluciones de sus sales, *pero también es insoluble la sal amoniacal*, especialmente en presencia de otras sales amoniacales solubles: la precipitación en forma de urato amónico es precisamente la base del método de HOPKINS y es aprovechada también en el de FOLIN-SHAFFER (véase Parte III).

En el organismo pueden penetrar *purinas metiladas* de origen vegetal y encontrarse en la orina después de haber perdido los grupos metílicos. Tales son la *cafeína* (trimetilxantina), la *teobromina* del cacao (dimetilxantina), etc.

Hemos dicho que en algunos animales el término verdadero del metabolismo púrico no es el ácido úrico, sino la *alantoína*. Este compuesto, abundante en la orina del buey, cerdo, perro, gato, y del cual también se encuentran indicios en la orina humana, tiene su origen en una oxidación del ácido úrico, en presencia de agua y con pérdida de CO_2:



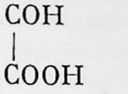
$$+ O + H_2O =$$

$$+ CO_2.$$

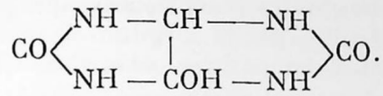
Esta reacción también se verifica por las enzimas contenidas en los órganos. La alantoína, poco soluble en agua y cristalizable, da con los metales pesados sales insolubles; se disuelve bien en NaOH: tam-

(1) El clásico procedimiento de LUDWIG-SALKOWSKI para la determinación del ácido úrico, merece ser expuesto en sus principios fundamentales que han servido después para otros métodos: con una mezcla de solución amoniacal de cloruro de magnesio y de solución amoniacal de plata, se precipita el ácido úrico como urato de plata y de magnesio; el precipitado se recoge y se trata por una solución de un sulfhidrato alcalino que lo descompone, obteniéndose sulfuro de Ag y urato alcalino neutro. Se filtra: el sulfuro metálico queda en el filtro y el urato pasa con el filtrado. Este filtrado se acidula con HCl y se evapora: se separa así ácido úrico que se recoge, se deseca y se pesa. El método de SALKOWSKI-ARNSTEIN, para determinar las purinas totales (incluso el ácido úrico) deriva también de éste (véase Parte III).

bién tiene, pues, carácter ácido. Algunos la consideran como un diureido del ácido glioxílico:



y realmente se obtiene por síntesis de este ácido y urea. Su fórmula es la siguiente:

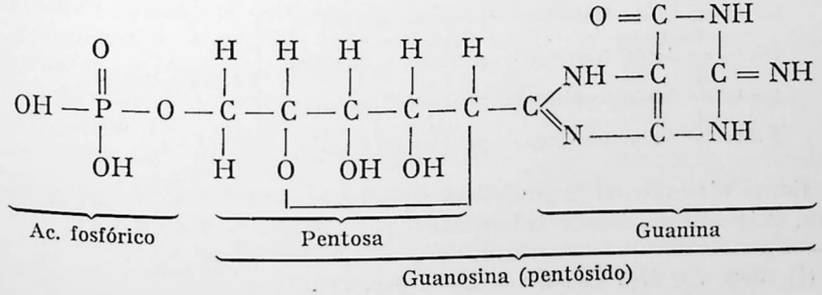


Resumidas así las nociones fundamentales acerca de los constituyentes del ácido nucleínico, debemos ver como está construído este compuesto.

Se admite que el hidrato de carbono (pentosa o hexosa) está en combinación etérea, o sea, igual como en los glucósidos, con una base púrica o pirimídica: parece que el N designado con el número 7 o el C designado con el 8 en la fórmula de constitución de la purina, es el punto en que esta base se une con el hidrato de carbono. Resultan así unos complejos que se llaman *nucleósidos*.

Los nucleósidos están combinados a su vez con ácido ortofosfórico para constituir lo que se llama el *nucleótido*: la combinación se realiza entre un hidroxilo del ácido y el azúcar, y es, por lo tanto, una especie de esterificación. De esto resulta que en el complejo: ácido fosfórico + hidrato de carbono + base púrica o pirimídica, el hidrato de carbono ocupa la posición central y une por un lado el ácido fosfórico y por el otro la base.

Existen ácidos nucleínicos simples que están constituídos por ácido fosfórico, hidrato de carbono y *una* base orgánica: son los *mononucleótidos*, que han servido de ejemplo para el estudio de los ácidos nucleínicos. Así sucede con el *ácido guanílico*, aislado del páncreas de buey (BANG) y bien estudiado por STEUDEL y LEVENE: éste resulta de una pentosa del tipo de la aldosa (*d-ribosa*, levógira) combinada con *guanina* por una parte y con *ácido fosfórico* por otra. El complejo: pentosa + guanina constituye un nucleósido que es un verdadero pentósido y que se llama, cuando está separado del ácido fosfórico, *guanosina*. He aquí la constitución del ácido guanílico:



Otro mononucleótido es el *ácido inosínico* que fué aislado del extracto de carne, pero que quizás existe preformado en el músculo y es semejante al precedente, con la sola diferencia de que lleva otra base, la *hipoxantina;* es, pues, un pentósido de la hipoxantina combinado con ácido fosfórico. El pentósido correspondiente ha sido obtenido separando el ácido fosfórico, y se designa con el nombre de *inosina:* la inosina o hipoxantosina, es, pues = pentosa + hipoxantina.

Estos dos mononucleótidos sencillos a los que podría añadirse otro análogo, el ácido adenílico de la levadura = ácido fosfórico + pentosa + adenina, pueden compararse entre sí escribiendo la constitución de cada uno :

Ácido guanílico = ácido fosfórico + pentosa + guanina.
Ácido inosínico = ácido fosfórico + pentosa + hipoxantina.

Estos compuestos se pueden desdoblar rompiendo la unión entre el ácido fosfórico y el hidrato de carbono y entonces quedan libres los nucleósidos, esto es, el complejo (del tipo de un glucósido : en este caso un pentósido) compuesto por el hidrato de carbono y la base púrica. Pero se pueden desdoblar también por rotura de la unión entre base e hidrato de carbono y entonces se obtienen las bases libres y por otra parte un complejo de ácido fosfórico + pentosa, un verdadero éster fosfórico del azúcar.

El organismo también puede escindir los nucleótidos por los dos puntos citados, de manera que unas veces se desdoblan en nucleósido y ácido fosfórico y otras en complejo fosfórico-azucarado y base nitrogenada.

Ahora bien, los ácidos nucleínicos más complejos están todos construídos según este esquema, pero en ellos concurren dos o cuatro nucleótidos simples (cada uno con una base púrica o pirimídica diversa) unidos para formar un polinucleótido, que generalmente es un *tetranucleótido*. La unión se verifica por los grupos fosfóricos, aunque quizás existan también uniones directas entre los hidratos de carbono de cada nucleótido sencillo. Así, de los estudios de LEVENE y JACOB resulta que el ácido nucleínico aislado de la levadura y del trigo tiene la composición expresada por el siguiente esquema :

Resto de ácido fosfórico — pentosa — adenina
|
Resto de ácido fosfórico — pentosa — guanina
|
Resto de ácido fosfórico — pentosa — citosina
|
Resto de ácido fosfórico — pentosa — uracilo

} Tetranucleótido.

Como ejemplo de trinucleótido podemos citar el *ácido tuberculínico*, extraído del bacilo tuberculoso por BROWN y JOHNSON (1).

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. LVII, pág. 199.

De acuerdo con este tipo están construídos los ácidos nucleínicos de los núcleoproteidos de las células animales : por lo regular éstos también son tetranucleótidos en los cuales los mononucleótidos sencillos están unidos entre sí en forma todavía no bien conocida, pero de modo tal, que en conjunto dejan libres 4 valencias ácidas ; el ácido nucleínico es tetrabásico. El hidrato de carbono es frecuentemente una hexosa, quizás el glucal, ya citado. HAMMARSTEN sostiene que las pirimidinas están unidas con hexosas y las purinas con pentosas. Las bases presentes son : citosina, timina, adenina y guanina. Los ácidos nucleínicos pueden hidrolizarse de varias maneras ; entre los productos de hidrólisis incompleta se encuentran los constituídos por el ácido fosfórico con el hidrato de carbono y las bases pirimídicas, es decir, lo que queda de la molécula completa después de la separación de las purinas : el ácido nucleínico puede dar, por la simple ebullición de la solución acuosa (mejor y completamente en presencia de bisulfato de Ca) el *ácido timínico* que es precisamente el residuo resultante de la separación de las purinas (por lo tanto es un compuesto de ácido fosfórico con azúcar y pirimidina), que es notable por tener cierto poder disolvente del ácido úrico que se ha querido aprovechar en terapéutica.

Los ácidos nucleínicos ofrecen, pues, una gran uniformidad de composición : las diferencias entre los varios núcleoproteidos, aunque están dotados de gran especificidad, pueden atribuirse en gran parte al núcleo proteico y no al ácido nucleínico unido a él. También la función antígena, que muchos núcleoproteidos poseen, es seguramente propia del componente proteico (y quizás se encuentra en aquellos núcleoproteidos que contienen una proteína más completa).

i) GLUCOPROTEIDOS.

Son proteidos que contienen, y que pierden por hidrólisis, una notable cantidad (hasta el 25 %) de un hidrato de carbono que es la *quitosamina* o (para los mucoides) la *condrosamina*, isómera de la primera. Contienen azufre en abundancia, hallándose unido el hidrato de carbono por una combinación de tipo de éster con el ácido sulfúrico. En realidad constan, pues, estos proteidos de una proteína de carácter básico unida por un enlace de tipo salino con un ácido (grupo prostético) que es el ácido mucoidinsulfúrico o el condroitinsulfúrico, incluyendo *abundante cantidad* de hidratos de carbono.

Estudiaremos aquí : 1.°, la *ovoalbúmina;* 2.°, la *mucina*, y 3.°, los *mucoides* o *condroglucoproteidos*.

La *ovoalbúmina* abunda en la clara de huevo de gallina. Es cristalizable, tiene un poder rotatorio $(\alpha)_D = -30°,7$ y coagula por el calor a unos 65°. Posee muchos caracteres de las albúminas, pero se diferencia de ellas por su gran riqueza en quitosamina. En otro tiempo se la clasificaba junto con la seroalbúmina, la lactalbúmina, etc.

La *mucina* es un producto de secreción de ciertos epitelios glandulares (glándulas salivales) o de revestimiento (células mucíparas o

caliciformes) ; en condiciones patológicas el protoplasma entero puede transformarse en mucina (hipersecreción o degeneración mucosa). Es el constituyente esencial del moco, de los exudados catarrales o catarros, etc. Tiene carácter ácido, por lo cual se disuelve bien en los álcalis diluídos, salificándose ; también en los materiales orgánicos parece que la mucina permanece en estado de combinación salina, por ejemplo en la saliva como sal potásica. Las soluciones de mucina tienen aspecto filante. La mucina *es precipitada por el ácido acético, no disolviéndose en un exceso del mismo* ; también la precipitan los ácidos minerales fuertes, pero apenas alcanzado un cierto grado de acidez, la redisuelven. *No coagula por el calor.* La mucina puede extraerse de los tejidos con agua o mejor con álcalis diluídos, y luego precipitarla con ácido acético.

En la técnica histológica la mucina es conocida por su basofilia (debida al carácter ácido) y por la tendencia a dar reacciones metacromáticas (con colores básicos : tionina, safranina). La mucina precipita también por saturación con NaCl y $MgSO_4$.

En las soluciones alcalinas de mucina tiene lugar rápidamente una desnaturalización con probable división de la molécula. La pepsina no la ataca ; la tripsina sólo parcialmente hasta formación de polipéptidos complejos. También la precipitan las sales de los metales pesados. En la mucina el grupo prostético está representado por el ácido mucoidinsulfúrico, que contiene el hidrato de carbono (quitosamina) unido con ácido sulfúrico en forma de éster (pág. 67). La mucina salival ha sido la más estudiada y presenta estos caracteres con mucha claridad. La de la bilis, la de las mucosas respiratorias, etc., parece que, de todos modos, se le asemejan mucho. En la baba del caracol se encuentran mucinas muy diversas ; también la *paramucina* y sobre todo la *pseudomucina* que se hallan en los quistes ováricos, se diferencian bastante de la mucina típica : así, la pseudomucina no precipita con ácido acético.

Los *mucoides* se encuentran en los tejidos, por lo general en los de sostén en los tendones, cartílagos, gelatina de Warton, varios mixomas, etc., y asimismo en la sangre que es también una especie de tejido conjuntivo con substancia intercelular líquida ; no precipitan con el ácido acético ; no tienen en solución alcalina el aspecto filante como la mucina. Como ésta, no coagulan por el calor.

El grupo prostético está representado por el ácido condroitinsulfúrico, que contiene el hidrato de carbono (condrosamina) unido de manera compleja con el ácido sulfúrico (pág. 67).

Entre ellos tenemos el *condromucoide* que forma, junto con el colágeno, la substancia fundamental de los cartílagos ; el *osteomucoide* de los huesos ; el *coriomucoide* del dermis de la piel (es un mucoide o una mucina que aumenta en el dermis en los estados hipotiroideos y en el mixedema, histológicamente demostrable en dicho tejido, que representa quizás como una escoria no consumida por haberse producido una depresión de las fuerzas oxidantes) ; el mucoide del cristalino ; el de la gelatina de Warton, etc. En el huevo de gallina se encuentra, junto con la ovoalbúmina y tan entremezclada con ésta que se le halla también en los cristales de ovoalbúmina, el *ovomucoide*, un mucoide que cede con gran facilidad el grupo reductor (por ejemplo, por simple digestión clorhidropépsica). El *seromucoide* es parecido al ovomucoide y se encuentra en pequeña cantidad en el plasma sanguíneo, donde representa una pequeña parte de las substancias nitrogenadas y no coagulables.

En la orina se encuentran mucoides y quizás también verdaderas mucinas : efectivamente, de ella se ha llegado a separar el ácido condroitinsulfúrico, y parece que el complejo proteico tiene un carácter marcadamente básico, siendo rico en diaminoácidos. Para la génesis de la substancia amiloide son importantes los estudios de Kuczinski (1), según el cual el amiloide es como una masa cristalina que precipita de los líquidos orgánicos en los tejidos cuando ha llegado a saturación en los líquidos dichos, y sería producida por desintegración proteica, por lo cual la amilosis entraría en el cuadro de la llamada *intoxicación proteica*.

En efecto, el investigador citado ha conseguido producirla en animales mediante inyecciones de caseína y otras proteínas por vía parenteral.

l) Aminas biógenas.

Con este nombre estudiaremos ahora un gran número de compuestos nitrogenados, de carácter básico, por lo general bastante sencillos y bien definidos, que pueden obtenerse fácilmente por síntesis, los cuales en gran parte, aunque no exclusivamente, derivan de las proteínas o de los aminoácidos que integran las proteínas.

Las *aminas* son originadas por sustitución en el amoníaco $(NH)_3$ o en el hidrato de amonio $(NH_4 \cdot OH)$ de uno o más átomos de hidrógeno por radicales alcohólicos. Ejemplo :

$(CH_3)NH_2$	$(CH_3)_2NH$	$(CH_3)_3N$	$(CH_3)_4 \cdot N \cdot OH$
(Mono)metilamina (amina primaria)	Dimetilamina (amina secundaria)	Trimetilamina (amina terciaria)	Amina cuaternaria

Se pueden obtener productos de sustitución con grupos alcohólicos diversos (metiletilamina, etc.) y con grupos alcohólicos diversamente modificados, con núcleo cíclico, etc.

Los miembros inferiores de la familia de las aminas, son gaseosos; los más elevados, líquidos, y los todavía más elevados, sólidos. Tienen un olor característico, penetrante, más o menos amoniacal o de pescado no muy fresco en los derivados inferiores (metilamina, etc.).

Son bases fuertes y, por consiguiente, forman sales con los ácidos; de las sales se separan bien las bases orgánicas respectivas por medio

(1) *Virchow's Arch.*, vol. CCXXXIN, 1922 ; *Klin. Woch.*, 1923, n.° 48.

del hidrato sódico. Las aminas existentes en el organismo han sido llamadas *proteinógenas* precisamente por las frecuentes relaciones genéticas que poseen con las proteínas: en efecto, hagamos notar inmediatamente que los aminoácidos se transforman en aminas primarias por descarboxilización (o pérdida de CO_2):

$$\begin{matrix} R \\ | \\ CH\cdot NH_2 \\ | \\ COOH \end{matrix} = CO_2 + R\cdot CH_2\cdot NH_2 ;$$

y, por ejemplo, de la glicocola puede obtenerse la metilamina:

$$CH_2\cdot NH_2\cdot COOH = CO_2 + CH_3\cdot NH_2.$$

Pero no todas las aminas del organismo son proteinógenas; algunas derivan quizás de los fosfátidos que las contienen en su molécula o de los ácidos nucleínicos, por demolición del complejo del nucleótido. Por lo tanto es más oportuna la denominación de GUGGENHEIM (1) que las llama *aminas biógenas*, que no prejuzga su origen y comprende todos los compuestos nitrogenados con nitrógeno en forma de uno o más aminogrupos, por lo tanto con *carácter básico* y con ciertas propiedades comunes relativas a solubilidad, precipitabilidad, etc. Desde el punto de vista biológico, las aminas biógenas tienen frecuentemente gran importancia, porque son productos intermedios del metabolismo, con frecuencia fragmentos *(aporregmas)* de la molécula proteica, dotados de actividad fisiológica notabilísima, por lo cual desempeñan el papel de excitantes específicos, reguladores o modificadores *(hormonas)* de varias funciones.

Las aminas biógenas tienen íntimas relaciones con otros compuestos biológicamente interesantes, tales como los *alcaloides* vegetales: también éstos son productos intermediarios, *básicos*, del metabolismo, que pueden obtenerse fácilmente como sales y también en forma cristalina; a menudo tiene acción fisiológica o farmacológica potente, presentando muchas analogías con algunas verdaderas aminas biógenas; para los vegetales son quizás una especie de excitadores o reguladores funcionales, aunque más abundantes y con núcleos numerosos y complicados, lo cual las diferencia de las aminas animales. Por otra parte, las aminas biógenas están en íntima conexión con las llamadas *ptomaínas* o bases de la putrefacción: también existen aminas biógenas que aparecen inmediatamente en la putrefacción, por el mecanismo ya citado de la descarboxilación de los aminoácidos de las proteínas, reacción que muchas bacterias, entre ellas las intestinales, realizan fácilmente.

(1) Véase el libro de este autor: *Die biogenen Amine*, J. Springer, 1920, y el de BARGER, *The simpler natural Bases*, Longmans 1914.

El estudio de muchas aminas biógenas adquiere singular importancia para el médico: la noción de que por la acción de las bacterias pueda tener lugar en el intestino la formación de aminas, algunas muy activas fisiológicamente, a partir de los aminoácidos que en él se liberan abundantemente durante la digestión de los albuminoides, proporciona una base química segura al concepto algo vago de la *autointoxicación intestinal*. Así BERTRAND y BERTHELOT (1) han encontrado en la flora intestinal ciertas bacterias productoras de ptomaínas y especialmente (2), en el curso de ciertas enteritis, un bacilo capaz de formar histamina (= β imidazoletilamina) a partir de la histidina, como también MELLANBY y TWORT (3) han comprobado; HANKE y KOESSLER (4) en particular, han estudiado recientemente la producción de la histamina a partir de la histidina y de la tiramina partiendo de la tirosina, por una acción descarboxilante, y específica según ellos de ciertas bacterias del intestino normal. Ahora bien, la histamina y la tiramina son bases tóxicas con acción típica sobre varios órganos, que normalmente serían neutralizadas al pasar a través de la pared intestinal.

Las aminas biógenas, tendrían muchas propiedades que las asemejan a los cuerpos púricos con las bases pirimídicas ya estudiadas: en efecto, éstas también poseen N en forma amínica o imínica.

También tienen propiedades comunes con ciertos aminoácidos de carácter básico *(bases hexónicas)* ya citados (lisina, histidina, arginina): así las aminas son precipitadas por el ácido fosfotúngstico, en solución neutra o ácida, en forma de fosfotungstatos, del mismo modo que los aminoácidos citados, los cuales también podrían incluirse entre las aminas biógenas como lo hace GUGGEHNEIM en su monografía. La precipitación con ácido fosfotúngstico se usa generalmente para aislar las aminas biógenas.

Las aminas biógenas forman *sales dobles*, es decir, complejos moleculares fácilmente precipitables y, por lo tanto, muy a propósito para su aislamiento, con varias sales de metales pesados: $PtCl_4$, $AuCl_3$, $ZnCl_2$, $AgNO_3$. Las sales dobles con el cloruro de platino y de oro tienen por fórmula general respectivamente $(Am.\ HCl)_2PtCl_4$ y $(Am.\ HCl)_4AuCl_3$, en las que Am significa amina: son las más constantes y fijas en su composición.

En el organismo las aminas biógenas se forman, pues, por desintegración de los aminoácidos, con separación de CO_2; pero también se obtienen por síntesis, y precisamente por la combinación de alcoholes o aldehidos con NH_3: según estos dos mecanismos:

$$\text{(I)} \qquad \underset{\text{Alcohol}}{ROH} + NH_3 = \underset{\text{Amina}}{R\cdot NH_2} + H_2O$$

(1) *Lancet*, 1913, 8.
(2) *Compt. rend. Acad. d. Sc.*, vol. CLIV, CLV, CLVI.
(3) *Journ. of Physiol.*, vol. XLV.
(4) *Journ. of biol. Chem.*, vol. LIX, n.° 3.

$$\text{(II)} \qquad R\cdot C\begin{cases} H \\ O \end{cases} + NH_3 = R\cdot C\begin{cases} H \\ NH_2 \\ OH \end{cases},$$

Aldehido Hidramina

y de este producto intermedio, por hidrogenación (es decir, por un proceso reductor) :

$$R\cdot C\begin{cases} H \\ NH_2 \\ OH \end{cases} + H_2 = R\cdot CH_2\cdot NH_2 + H_2O.$$

Hidramina Amina

Los dos mecanismos sintéticos, además del proceso desintegrativo de desprendimiento de CO_2 de los aminoácidos, pueden demostrarse en el organismo e *in vitro :* pero encontramos más frecuentemente el proceso desintegrativo, debido a la actividad bacteriana.

La amina primaria que se forma en todos estos casos puede ser transformada posteriormente en secundaria, terciaria o cuaternaria, por introducción sucesiva de grupos alcohólicos (generalmente se trata de grupos metílicos : proceso de *metilación progresiva)* y esta sucesiva introducción se verifica, como la primera, ya mediante reacción de la amina, que se comporta como NH_3, con alcohol, ya por reacción con aldehidos : en resumen, se repite el mecanismo de las reacciones I y II, sólo que en lugar de NH_3 hay una amina primaria, secundaria, etcétera, ya constituída, y así se llega respectivamente a aminas secundarias, terciarias, etc.

El organismo ofrece un ejemplo de metilación completa en la colina, una amina cuaternaria de gran difusión, que es un hidrato de trimetiloxietilamonio. Los aminoácidos pueden sufrir también la metilación, y entonces resultan las *betaínas* (pág. 197).

Según datos experimentales recientes (1), el tiroides sería el órgano principal de la metilación de los diversos compuestos orgánicos.

La descomposición de las aminas biógenas sigue la vía opuesta a su formación sintética : basta, pues, leer de derecha a izquierda las fórmulas I y II para comprender como el amoníaco se separa del residuo no nitrogenado que aparece directamente como alcohol o aldehido : en cuyo último caso se pasa por un compuesto intermedio que es la hidramina. Las aminas primarias son más fáciles de desintegrar ; las secundarias son más estables, y aun más las ternarias. Para las aminas con varios radicales alcohólicos se conocen procesos de *desmetilación progresiva.*

Las aminas biógenas están, según GUGGENHEIM, repartidas en los grupos siguientes que enumeraremos bosquejando brevemente sus principales representantes.

(1) STUBER, *Klin. Woch.*, 1923, n.° 20.

Alquilaminas. — Son las más sencillas ; derivan de los aminoácidos de la serie grasa por el acostumbrado mecanismo de la descarboxilación. Se encuentran frecuentemente en la putrefacción producida por bacterias, las cuales realizan con extrema facilidad la operación de desprender CO_2 de muchos aminoácidos, mientras que el químico sólo consigue este resultado usando temperaturas elevadas y ácidos o álcalis enérgicos.

Advirtamos que durante la putrefacción algunos aminoácidos son más fácilmente desaminados y transformados en ácidos grasos ; aunque seguramente primero se produce la amina por pérdida de CO_2, muchas veces ésta es desaminada luego y transformada en alcohol, y después, por oxidación, en ácido graso inferior.

Entre las alquilaminas tenemos las *metilaminas* que se forman también en los cultivos de bacilos del tétanos, del proteus, del *bac. fluorescens liquefaciens* (en gelatina), en varias conservas, etc. : la monometilamina $CH_3\cdot NH_2$; la dimetilamina $(CH_3)_2NH$, y la trimetilamina $(CH_3)_3N$. Esta última, parece que proviene especialmente, en varios fenómenos putrefactivos y desintegrativos, de la colina y de las betaínas, compuestos muy abundantes en la célula, y por lo tanto se comprende el desarrollo frecuente de trimetilamina en todos aquellos procesos. También en la orina normal DE FILIPPI (1) dice haber encontrado pequeñas cantidades de trimetilamina (18-26 mgr. al día) que, según BAUER (2), estaría aumentada en el curso de afecciones graves degenerativas del sistema nervioso central, como consecuencia de notables procesos desintegrativos a expensas de los fosfátidos, con liberación de colina, substancia madre de la base en cuestión.

Recordemos la etilamina $C_2H_5\cdot NH_2$, y la butilamina $C_4H_9\cdot NH_2$ que ACKERMANN ha demostrado que podía formarse por rotura del anillo de la prolina, por acción de las bacterias, etc.

Las alquilaminas son productos intermediarios del metabolismo celular que el organismo utiliza separando el grupo amínico, en forma de amoníaco, del radical alcohólico. Las bacterias pueden utilizar el nitrógeno así liberado para edificar su protoplasma, mientras que el residuo alcohólico es quemado con fines energéticos. Por el contrario, los organismos superiores forman urea con el radical amínico y también con el amoníaco, mientras que el radical alcohólico es simplemente oxidado. Así las alquilaminas, bastante tóxicas, inyectadas a los mamíferos, son rápidamente eliminadas de la circulación. El efecto fisiológico de las alquilaminas es, en parte, semejante a la de las sales amoniacales : acción narcotizante y paralizante central. En las alquilaminas cuaternarias, como el hidrato de tetrametilamonio, aparece una acción curarizante, periférica, sobre las terminaciones neuromusculares.

Finalmente las alquilaminas superiores, por ejemplo, la butilamina, $C_4H_9\cdot NH_2$ tienen lo que BARGER y DALE han llamado *acción simpático-*

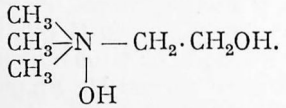
(1) *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. XLIX.
(2) *Id.*, vol. LXXXVI, con métodos.

mimética, esto es, que determinan efectos iguales a los que produce la excitación del simpático y, por lo tanto, parecidos a los de la adrenalina, la hormona simpáticotrópica por excelencia : aumento de la presión de la sangre por refuerzo de la contracción cardíaca y por vasoconstricción periférica y especialmente en el campo de acción del esplácnico, estimulación de la inervación simpática del útero (útero no grávido de gata : relajación), dilatación pupilar, etc.

Alcanolaminas. — Tienen un hidroxilo alcohólico, que falta en las alquilaminas. Se comprende que no se acostumbren a encontrar libres en la naturaleza, sino combinadas con radicales ácidos por medio de aquel hidroxilo alcohólico, formando, por lo tanto, ésteres. La alcanolamina más sencilla es el alcohol aminoetílico o *calamina :*

$$NH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2OH.$$

Un derivado importante suyo (por metilación integral) es la *colina* o hidrato de oxietiltrimetilamonio :



Estas dos bases están unidas en forma de ésteres con el ácido glicerofosfórico cuando contribuyen a constituir la molécula de los fosfátidos (pág. 82). Se separan abundantemente en la descomposición de éstos, y son, pues, un ejemplo de aminas no proteinógenas sino lipógenas. Sin embargo, no está excluído el origen proteico de las mismas por descarboxilación de oxiaminoácidos ; de la serina, por ejemplo, podrían derivarse la colamina de este modo :

$$OH \cdot CH_2 — CH(NH_2) — COOH = CO_2 + OH \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot NH_2.$$

La *esfingosina* $C_{12}H_3NO_2$ es un aminoalcohol o alcanolamina superior que se encuentra en ciertos lipoides. Existe cierto parecido químico entre las alcanolaminas y algunos alcaloides : efectivamente, la cocaína y la atropina son ésteres de ácidos orgánicos con una alcanolamina cíclica compleja llamada *tropina*. Finalmente, podrían considerarse como alcanolaminas, por tener un grupo NH_2 e hidroxilos alcohólicos, la *glucosamina* y su estereoisómero la *condrosamina*.

La *colina* tiene gran importancia para nosotros : es probable que en pequeña cantidad se encuentre libre en varios órganos y líquidos del cuerpo humano (además, y en cantidad mucho mayor se halla incluída en los fosfátidos). Guggenheim y Loeffler han encontrado de 2 a 20 mgr. en la sangre y de 2 a 10 mgr. en la orina (por litro), cantidades parecidas en el líquido céfalo-raquídeo, sin aumento digno de mención durante las enfermedades degenerativas (tabes, parálisis) del sistema nervioso central.

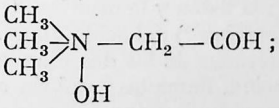
La base libre es como un jarabe denso, incoloro, soluble en agua y en alcohol, insoluble en cloroformo y en éter ; se descompone fácilmente en glicoles y trimetilamina. Es base enérgica, precipita los metales de sus sales en forma de hidróxidos, forma sales con los ácidos y da precipitados característicos con varias sales metálicas.

La colina inyectada desaparece rápidamente de la circulación, aunque sin depositarse en ningún órgano ; parece que es destruída o utilizada quizás para la síntesis de los fosfátidos.

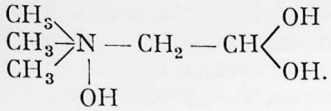
Como base cuaternaria de amonio la colina tiene acción curarizante (Cervello, Böhm), por lo cual, es tóxica, pues produce la parálisis de los músculos respiratorios (0,5 gr. en el gato). Los conejos la toleran en cantidades mayores (0,7 gr. bajo la piel no producen parálisis). A dosis inferiores, incapaces de presentar el efecto curarizante, la colina tiene una acción compleja sobre el sistema nervioso vegetativo ; produce una caída de la presión sanguínea, seguida frecuentemente de una breve elevación (si va precedida de una inyección de atropina falta el descenso y sólo se encuentra la fase de elevación). Esta acción hipotensiva va asociada con vasodilataciónes en distintas regiones (extremidades, intestino, riñones) y con una acción diastólica sobre el corazón. En realidad, tanto sobre el corazón de rana como sobre el de los mamíferos, la colina actúa (Golowinski, Patta y Varisco) excitando las terminaciones del vago, por lo tanto en sentido cronotropo e inotropo negativos. La colina excita la motilidad del intestino y del útero y también las secreciones salival, pancreática y biliar. Actúa sobre el ojo como los alcaloides del grupo de la fisostigmina. En conjunto la acción de la colina — prescindiendo de la curarizante debida a su estructura de base cuaternaria — es esencialmente excitadora del parasimpático, por lo tanto antagonista, hasta cierto punto, de la producida por la adrenalina. El grupo oxietílico es el principal responsable de esta acción parasimpáticotrópica.

A la colina se debe la llamada *reacción de* Florence del esperma, empleada en Medicina legal : añadiendo solución de yodo yodurada a un poco de colina o de un material rico en colina, se obtienen primero gotas y luego cristalitos de peryoduro de colina.

La introducción del radical acético eleva mucho su acción fisiológica (paralizante del corazón, excitante del intestino aislado, etc.) ; en ello se fundan los métodos biológicos para reconocer la presencia de la colina, consistentes en acetilarla y después ensayarla sobre aquellos substratos fisiológicos. La *muscarina*, que se extrae del *Agaricus muscaricus*, hongo venenoso bien conocido, tiene una estructura química y acción fisiológica muy parecidas a las citadas para la colina, pues es un derivado aldehídico de ésta :

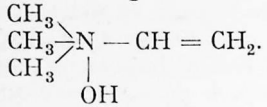


o, como hidrato :



Grupo de la neurina. — Está formado por bases muy parecidas a la colina pero con una cadena *no saturada* de átomos de C y por lo tanto con un enlace doble.

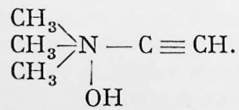
La neurina tiene la fórmula siguiente :



La base fundamental, de la cual se deriva la neurina por metilación, es, pues, la vinilamina : $CH_2 = CH - NH_2$.

La neurina puede derivarse de la colina por simple pérdida de agua, por lo cual ha sido considerada como un anhídrido de la colina. Esta deshidratación, difícil y quizás imposible para el químico, es producida con facilidad por ciertas bacterias en condiciones especiales. Efectivamente, la neurina, presente en el tejido nervioso, no existe en él preformada, sino que se origina por una acción bacteriana sobre la colina que existe en abundancia en la materia nerviosa.

La neurina preformada se encuentra rara vez, al contrario de lo que pasa con la colina ; parece cierto que existen indicios de ella en las cápsulas suprarrenales, en la orina y, según Koch, especialmente en la orina de perros paratiroidectomizados (entonces, junto con otras bases). La acción fisiológica de la neurisma es parecida a la de la colina ; en parte es una acción curarizante, a causa de su naturaleza de base cuaternaria, pero también es depresora, cardíaca y secretoria, por efecto de una excitación parasimpática. Esta última es mucho más marcada que en la colina, probablemente a causa del doble enlace de la molécula : efectivamente, la toxicidad aumenta todavía en la *acetilenneurina* que tiene un enlace triple :



Diaminas. — Derivan esencialmente, en los procesos de putrefacción, de los dos diaminoácidos de la molécula proteica mejor conocidos y más abundantes : la lisina y la ornitina. Quizás también puede derivarse una diamina *(putrina* ?) del ácido diaminotrioxidodecanoico.

Las dos diaminas derivadas de los dos diaminoácidos citados, son la *cadaverina* y la *putrescina*, llamadas también respectivamente *pentametilendiamina* y *tetrametilendiamina.*

La lisina (ácido α-ε-diaminocaproico) da, por pérdida de Co_2, la cadaverina :

$$H_2N \cdot (CH_2)_4 \cdot CH(NH_2) \cdot COOH = CO_2 + H_2N \cdot (CH_2)_5NH_2$$

La ornitina no se encuentra libre en las proteínas, sino en forma de combinación con la guanidina, como *arginina*, según ya se ha dicho. El proceso putrefactivo (bacteriano) libera primero la arginina de su engranaje con los otros componentes de la molécula proteica, y después divide hidrolíticamente la arginina en urea y ornitina ; finalmente descarboxila ésta, según la reacción :

$$H_2N \cdot (CH_2)_3 \cdot CH(NH_2) \cdot COOH = CO_2 + H_2N \cdot (CH_2)_4 \cdot NH_2$$

y así se produce la putrescina (1). También parece posible que la arginina sea descarboxilada *antes* de ser escindida en urea y ornitina, obteniéndose así una base que es la *agmatina*, y que después ésta sea desintegrada en urea y putrescina.

La cadaverina y la putrescina se forman solamente en la putrefacción de aquellas proteínas que contienen los dos aminoácidos correspondientes.

No sólo pueden formarlas las bacterias de la putrefacción, sino también el bacilo del tétanos y el vibrión colérico. También las bacterias de la maduración del queso, varios hongos inferiores y superiores *(Amanita, Boletus)*, vegetales superiores, etc., pueden producir diaminas. En cuanto al organismo animal, la cuestión es insegura : se conocen casos de *diaminuria* (presencia de putrescina y cadaverina en la orina, en la cual normalmente no se encuentran o tan sólo en pequeños indicios) asociados o no a cistinuria, atribuídos en otro tiempo a procesos putrefactivos anormales del intestino, pero considerados actualmente con toda seguridad como anomalías metabólicas (Parte II, Sección III).

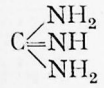
Es notable la posibilidad de obtener (por soldadura en anillo y separación de NH_3) pirrolidina de la putrescina, y piperidina de la cadaverina, lo cual nos permite vislumbrar el camino seguido por la Naturaleza en el reino vegetal para pasar de los aminoácidos a las bases amínicas y de éstas a anillos carbonitrogenados, núcleos de alcaloides importantes. No se sabe nada acerca de la posibilidad de este mecanismo en los organismos animales : pero también se conocen importantes ejemplos de la formación en ellos de grupos cíclicos a partir de cadenas abiertas, aun cuando no sea pasando por las bases amínicas (pág. 104) al tratar del ácido glutámico). Las diaminas introducidas en los organismos superiores son sencillamente quemadas, y

(1) En las aves, la ornitina puede ir unida al ácido benzoico y ser eliminada con la orina como *ácido ornitúrico* : administrando ácido benzoico a las gallinas, el ácido ornitúrico aparece con abundancia en la orina.

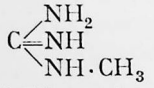
únicamente si está reducido el poder oxidante pasan a la orina (diaminuria). Sólo con dosis altas (0,4-0,6 gr. de clorhidrato de cadaverina en el conejo) se presentan calambres, hipotermia y muerte.

Citemos una amina C_2H_5N, que fué llamada *espermina* y que se encuentra en el esperma humano como fosfato en estado cristalino; también los cristales de CHARCOT-LEYDEN de los esputos tienen análoga naturaleza. La espermina debe tener relaciones de origen con una diamina, que nunca ha sido encontrada libre en el organismo : la etilendiamina : $H_2N - CH_2 - CH_2 - NH_2$.

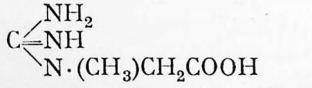
Guanidinas. — La guanidina es una iminourea, que tiene por fórmula :



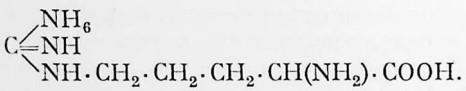
y se encuentra ampliamente difundida en los dos reinos en estado libre, en forma de metilguanidina, en combinación con radicales ácidos como en la *creatina* y también combinada con aminoácidos como en la arginina. He aquí las fórmulas de estos derivados importantes de la guanidina :



Metilguanidina



Creatina (ácido metilguanidinacético)



Arginina (= guanidina + arnitina)

Habíamos ya hablado de la arginina a propósito de la composición de la molécula albuminoidea y hace poco hemos visto como de la ornitina, el aminoácido que está combinado con la guanidina para formar la arginina, se libera durante la putrefacción una diamina importante, la putrescina.

La arginina se encuentra en todas las proteínas : es muy escasa en la *elastina*, pero abunda, hasta constituir 1,80 % del peso total, en muchas protaminas. Parece que la arginina, y quizás también otras de las llamadas *bases hexónicas*, son los componentes del núcleo proteico fundamental más capaces de variar cuantitativamente y de reaccionar en los diversos estados funcionales de los órganos : en realidad la arginina, por contener varios grupos básicos, tiene una gran capacidad para entrar en variadas combinaciones y para transformarse en otros compuestos y (lo mismo que la histifina ?) quizás también para convertirse en cuerpos púricos o pirimídicos. Así se comprende el hecho interesante de que la arginina abunde como componente proteico en las células en multiplicación activa, esto es, en aquellas que están necesitadas de una cantidad notable de componentes nucleares. En la maduración progresiva de los espermatozoides de los peces, por ejemplo, se encuentra un notable aumento de la proporción de arginina acompañado de una disminución correlativa de los demás aminoácidos ; también las protaminas o proteínas elementales, abundantes en las células llegadas a la madurez, son precisamente las más ricas en arginina. El tejido de los tumores es más rico en arginina que el de los órganos normales : DRUMMOND (1) y KOCHER (2) han encontrado que la proporción de nitrógeno existente en forma de arginina en el hígado normal humano es del 5,6 % al 6,8 % del N total, mientras que en el hígado con metástasis neoplásicas llega a 11,6-13,6 %. Por el contrario, la cantidad de arginina se ha encontrado reducida en casos de envenenamiento por el fósforo, y lo mismo sucede en las aves después de la administración de ácido benzoico que fija la ornitina y la elimina por las vías urinarias en forma de ácido ornitúrico, privando al organismo de uno de los constituyentes de la arginina.

Pero, si bien es abundante la cantidad de arginina unida a las proteínas, es escasa o escasísima la que se halla en forma libre en los órganos y líquidos animales. Efectivamente, el organismo de los vertebrados posee fuerzas enzimáticas capaces de escindir la arginina en ornitina y urea *(arginasas)* aun cuando el organismo esté invadido por grandes cantidades de arginina libre procedente de una destrucción anormal de albuminoides ; la urea es prontamente eliminada por el riñón, y la ornitina es descarboxilada y transformada en putrescina, o bien, unida con compuestos aromáticos y eliminada luego o simplemente quemada. Sólo en condiciones especiales, por deficiencia del poder de ataque sobre la arginina o por liberación excesiva de este compuesto en los tejidos, puede hallarse todavía un remanente de este aminoácido : así se ha comprobado en los tejidos en estado de neoformación, en el bazo, en el testículo y en los tumores malignos. En los invertebrados el poder de escisión de la arginina es débil, por lo cual es más fácil encontrarla libre en los tejidos, como en el caso, por ejemplo, de los crustáceos.

La *creatina* o ácido metilguanidinacético es un componente constante de los músculos de los vertebrados y de muchos invertebrados (falta sólo en muchos crustáceos, en los que es reemplazada por la arginina). *La creatinina* es un anhídrido de la creatina y se forma de ésta con facilidad, por ejemplo, por ebullición en líquido ácido :

$$H_2N \cdot C(NH) \cdot N \cdot (CH_3)CH_2 \cdot COOH = H_2O + HN \cdot C(NH) \cdot N(CH_3) \cdot CH_2CO.$$

(1) *Bioch. Journ.*, vol. X y XI.
(2) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XXII.

La formación de la creatinina representa una especie de salificación interna, porque la parte ácida (radical acético) de la molécula de creatina se combina, con eliminación de agua, con la porción básica (grupo amínico libre). La creatinina no se encuentra en los músculos frescos, donde aparece secundariamente después de cierto tiempo de conservación o por efecto de ciertas manipulaciones (ebullición en líquido ácido e incluso por la misma acidez natural de la carne) deshidratándose la creatina.

El extracto de carne puede contener de 0,55 a 4,79 % de creatina y de 0,83 a 5,21 % de creatinina.

La creatina existe en proporción bastante constante en los músculos estriados y lisos ; sin embargo, los primeros contienen más que los segundos, y los músculos esqueléticos más que el corazón. El psoas del hombre contiene 0,36-0,42 % de creatina. Los músculos del conejo contienen 0,52 %, los del pesro 0,37 %, los del gato 0,45 % ; la vejiga contiene cerca del 0,10 % (musculatura lisa).

La sangre contiene siempre creatina ; también se halla en la orina en determinadas condiciones fisiológicas (niños, embarazo, menstruación, ayuno) o patológicas (fiebre).

La creatinina es un producto terminal del metabolismo (cerca del 2-3 % de la creatinina formada en el cuerpo o introducida con la carne que se ingiere como alimento sufre la transformación en anhídrido ; el resto es oxidado siguiendo un mecanismo desconocido) y *siempre* se encuentra en la orina. Con álcalis débiles en caliente (magnesia, cal), puede transformarse la creatinina en creatina : esta reacción se verifica también lentamente y por sí sola en solución acuosa. Pero la importancia de estos dos derivados guanidínicos es tal, que debemos diferir el estudio de su papel fisiológico hasta la segunda parte de esta obra. Sólo haremos mención aquí de una síntesis importante de la creatina a partir de la cianamida y de la metilglicocola o *sarcosina* (en solución acuosa o alcohólica) :

$$\underset{\text{Cianamida}}{H_2N\cdot CN} + \underset{\text{Sarcosina o metilglicocola}}{NH(CH_3)\cdot CH_2\cdot COOH} =$$
$$= \underset{\text{Creatina}}{H_2N\cdot C(NH)\cdot N(CH_3)\cdot CH_2\cdot COOH}$$

La creatina forma prismas incoloros, transparentes, rómbicos, que contienen una molécula de agua de cristalización ; ésta puede ser eliminada a 100°, transformándose entonces en cristales opacos. Es amarga, soluble en agua caliente, menos en agua fría, casi insoluble en alcohol e insoluble en éter. Forma con los ácidos sales muy inestables. Con los álcalis, puede experimentar la escisión hidrolítica en urea y sarcosina :

$$\underset{\text{Creatina}}{H_2N\cdot C(NH)\cdot N(CH_3)\cdot CH_2\cdot COOH} + H_2O =$$
$$= \underset{\text{Urea}}{H_2N\cdot CO\cdot NH_2} + \underset{\text{Sarcosina}}{NH(CH_3)\cdot CH_2\cdot COOH}.$$

La creatinina forma prismas y laminillas incoloros. Tiene sabor cáustico, sus soluciones son alcalinas ; es soluble en 11,5 partes de agua fría, bastante más en agua caliente, en 625 partes de alcohol frío y más en el caliente. Es un álcali bastante fuerte, capaz de desalojar el amoníaco de sus sales : forma sales con varios ácidos (los picratos son insolubles, de donde el empleo del ácido pícrico para aislar la creatinina) y sales dobles con las de metales pesados : es característica la combinación que produce con el cloruro de zinc.

La creatinina da dos reacciones características. Una es la de Jaffé con ácido pícrico en líquido alcalino, en la cual este ácido (amarillo) es reducido *en frío* a picrámico (rojo), reacción que es la base del método de Folin para determinar cuantitativamente la creatinina. La otra reacción es la de Weyl con nitroprusiato sódico, que en medio alcalino, da un color rojo. La acetona da también esta última reacción, pero con la diferencia siguiente : en la acetona la acidificación subsiguiente con ácido acético refuerza el color rojo que se vuelve purpúreo, mientras que en la creatinina la acidificación hace desaparecer el color rojo, dando un color amarillo o amarlllo verdoso).

Añadamos que se ha encontrado creatinina en el reino vegetal y en la tierra de cultivo.

La *guanidina libre* y la *mono* o *dimetil-guanidinas* han sido encontradas en la orina, pero en muchos casos los resultados obtenidos son susceptibles de crítica porque han sido logrados por medios que implicaban una descomposición fácil de la creatinina y por lo tanto la aparición *secundaria* de compuestos guanidínicos libres. Seguramente tienen más valor las investigaciones más precisas de Engeladn (1) y sobre todo de Koch (2) que han encontrado, el primero cantidades mínimas de guanidina en la orina normal y el segundo guanidina, guanidina metilada, colina y neurina en la orina de perros privados de paratiroides. Estos trabajos de Koch son, como veremos, el punto de partida para investigaciones recientes y diversas teorías acerca de la génesis de la tetania.

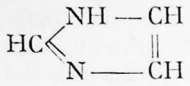
La guanidina es una base bastante enérgica, cristalina, delicuescente, capaz de absorber el CO_2 del aire ; es soluble en alcohol, pero no en éter. Forma sales de las cuales el clorhidrato, muy soluble, es el más adecuado para experimentos fisiopatológicos. En las soluciones de sus sales existe la guanidina en forma de *hidróxido* (fuertemente disociado), de *guanidinio*, es decir, de un compuesto que forma un ion monovalente, como el amonio : $H_2N\cdot C(NH)\cdot NH_3\cdot OH$. Tiene acción tóxica, excitante, o mejor dicho, elevadora de la excitabilidad neuromuscular : este efecto sería debido al ion monovalente *guanidinio* ya citado, completamente análogo a un ion de metal alcalino (Na).

El cuadro de intoxicación aguda y crónica del conejo o del gato con la guanidina o, mejor, con guanidina metilada, recuerda mucho

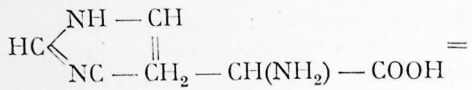
(1) *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. LVII.
(2) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XV.

el cuadro de la tetania aguda o crónica del hombre y de la tetania de los animales de experimentación a los que se ha extirpado el paratiroides (Parte II). HEYDE (1) encuentra también metilguanidina en la orina de los animales que han sufrido quemaduras.

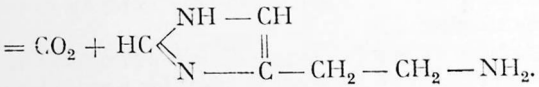
Derivados imidazólicos. — En la página 100 hemos descrito ya el anillo imidazólico :



que hemos encontrado en la histidina, aminoácido de mucha importancia. Aquí debemos citar la *histamina* o β-imidazoletilamina que deriva de la histamina por descarboxilación :



Histidina



Histamina

Los cuerpos púricos podrían considerarse también como derivados imidazólicos, e igual podemos decir para las hidantoínas. Estas, son cuerpos que resultan por combinación de la urea con aminoácidos, con formación de ácido hidantoínico y deshidratación sucesiva de éste, con formación de un anhídrido que es precisamente una hidantoína :

I. $H_2N \cdot CH_2 \cdot COOH + H_2N \cdot CO \cdot NH_2 =$

Glicocola — Urea

$= NH_3 + H_2N \cdot CO \cdot NH \cdot CH_2 \cdot COOH$

Ácido hidantoínico

II. $H_2N \cdot CO \cdot NH \cdot CH_2 \cdot COOH = H_2O +$

Ácido hidantoínico — Hidantoína

Sin embargo, las hidantoínas tienen quizás poca importancia fisiológica suponiendo muchos que son productos artificiales, originados por las manipulaciones a que se someten ciertos líquidos orgánicos como la orina, que contienen urea y aminoácidos capaces de reaccionar entre sí.

(1) *Centralbl. f. Phys.*, vol. XXV y XXVI.

Queremos recordar el hecho interesante, puesto en evidencia por WINDAUS y KNOOP (1), según el cual, del azúcar en solución amoniacal en presencia de formaldehido se formarían lentamente derivados metilados del imidazol (separables en forma de sales de zinc). Sin embargo, para nosotros tiene más importancia la *histamina*, que es un aminoetilimidazol, según la fórmula citada. Las bacterias de la putrefacción la producen abundantemente a partir de la histidina y, por lo tanto, de todas las proteínas que contienen histidina. Es uno de los principios activos del cornezuelo de centeno, debiéndose quizás en este caso su origen a una acción compleja del hongo *(Claviceps)* y de las bacterias sobre las proteínas del centeno. Ya hemos citado en la página 183 el hecho de que esta base es producida abundantemente por los bacilos descubiertos por BERTHELOT y BERTRAND y por MELLANBY y TWORT en las heces de ciertos enfermos del tubo digestivo: pero la misma base se encuentra seguramente en las heces normales, en la pared intestinal y, ya reabsorbida, en la orina. Las investigaciones recientes de HANKE y KOESSLER (2), ponen en evidencia una acción específica descarboxilante respecto a la histidina, en ciertas razas bacterianas. Estos autores exponen también un método para la determinación de la histamina en las heces y en los tejidos. Probablemente son muchas las bacterias capaces de producir la base a partir del aminoácido respectivo, aunque con diferente intensidad. En cambio el químico sólo logra esta operación a costa de dificultades extremas.

La histamina es muy tóxica. La acción tóxica en los roedores es muy diferente según que la inyección sea subcutánea o intravenosa : para el cobayo son mortales las dosis de 0,1-0,5 mgr. ; bajo la piel tolera 1 mgr., y la dosis mínima mortal es 1,2-1,3 mgr. para un cobayo de 250 gr. Para el gato, la diferencia según la vía de inyección es menor : la dosis mínima mortal es de unos 35 mgr. Se deben a DALE y sus colaboradores (3) los minuciosos estudios sobre la acción de la histamina : esta base produce un cuadro sindrómico que tiene alguna analogía con el del *shock* anafiláctico, en el cual domina precisamente la acción sobre varios músculos lisos, especialmente sobre los del útero, que es excitado produciendo fuertes contracciones rítmicas, alternando con períodos de relajación, o un calambre permanente (de donde el empleo del cornezuelo de centeno en Obstetricia) y sobre los de las ramificaciones bronquiales que también son excitados (de modo que puede producirse con esta base un verdadero cuadro de *asma experimental)*. En los pequeños roedores de laboratorio el espasmo bronquial, que conduce a la muerte rápida con enfisema pulmonar agudo, domina el cuadro de la intoxicación. La histamina tiene una acción característica sobre el aparato circulatorio, produciendo un

(1) *Ber. d. chem. Ges.*, vol. XXXVIII.
(2) *Journ. of biol. Chem.*, vol. LIX, n.° 3, 1924.
(3) *Journ. of Physiol.*, vol. XLI, XLIII, LII.

descenso de la presión en la carótida, interrumpido, sin embargo, por una breve fase de elevación : tiene, pues, una acción hipotensiva, en dos fases ; en la pequeña circulación sólo eleva la presión. Esta acción compleja se explica por el hecho de que la base tiene un efecto vasoconstrictor sobre las arterias, pero por el contrario, tiene una acción paralizante sobre las formaciones contráctiles de los capilares conocidas hoy con el nombre de *células de* ROUGET. Esta última es la acción dominante y característica (por lo menos para el perro) de la histamina, que puede ponerse como ejemplo de *veneno capilar*, igualmente como varias substancias inorgánicas (arsénico, metales). Las cuidadosas observaciones de DALE y sus colaboradores han demostrado que la inyección de histamina va seguida de un descenso de la presión por dilatación de los capilares, con conservación o refuerzo de la actividad cardíaca, coloración cianótica de la piel, aumento de volumen de las extremidades, espesamiento de la sangre, fenómenos debidos al hecho (observado también al microscopio por HOOKER en la oreja del gato) de la constricción arterial con retardo de la circulación, dilatación de los capilares, acumulación y estancamiento de la sangre en los capilares y trasudación del plasma de los capilares hacia los tejidos. Este fenómeno de la trasudación a consecuencia de la dilatación capilar explica la acción local penfígena de la histamina aplicada al exterior. Nótese la diferencia que hay entre la colina y la acetilcolina por una parte, que dilatan las arterias por excitar los vasodilatadores, y la histamina que, por el contrario, dilata los capilares, demostrando la independencia funcional y por lo tanto la posibilidad de reacciones diversas en las arteriolas y en los capilares (1). La histamina excita la secreción salival y pancreática, produce miosis y se ha descrito también un cierto efecto narcótico subsiguiente a la inyección subcutánea, que revela una acción sobre el sistema nervioso central (quizás más marcado en la rana). Nótese también que la acción aguda de la histamina presenta fenómenos comunes con varios cuadros patológicos, además de la anafilaxia ; el *shock* de la histamina ha sido comparado con el *shock* de los traumáticos (reabsorción de bases semejantes a la histamina en el foco traumático), el de las quemaduras, etc. En el músculo se encuentra la *carnosina* que es un dipéptido constituído por alanina e histidina, divisible hidrolíticamente en estos dos aminoácidos (parece que es alanil histidina y no histidil alanina) : quizás podría encontrarse alguna relación entre las lesiones musculares destructivas, las acciones bacterianas hidrolizantes y descarboxilantes y la entrada en la circulación de bases histamínicas en el *shock* ya citado, que confirmasen esta teoría química, a decir verdad un poco demasiado absoluta.

Acerca de las formas de intoxicación crónica estamos menos documentados : según BUSCAINO (2) se encuentran en el conejo síndromes

(1) Sobre la acción de la histamina en relación con la de otros venenos capilares, véase : HEUBNER, en *Klin. Woch.*, 1923, n.° 43 y 44.
(2) *Riv. Patol. nerv. e ment.*, año XXVII, fasc. 11-12, 1922.

dependientes del sistema nervioso con localización preferente en los ganglios de la base, y a cargo del hígado, de los que este autor deduce consideraciones patógénicas acerca de las afecciones parkinsonianas, catatónicas, etc., en las cuales cree haber demostrado la presencia en la orina de aminas, con núcleo imidazólico.

BERLIN y KUTSCHER (1) encontraron en el líquido cefalo-raquídeo de enfermos de meningitis cerebro-espinal un cuerpo con núcleo imidazólico, distinto de la β-imidazoletilamina, y dotado de propiedades tóxicas.

El principio activo de la lámina intermedia de la hipófisis, de acción hemodinámica (excitante del corazón y de la musculatura lisa de las arteriolas, especialmente de los miembros) galactogoga, excitante de la contracción uterina, modificadora de la secreción urinaria y utilizada con varios nombres comerciales *(pituitrina)* en la práctica médica, parece que debe también unirse a las aminas biógenas con núcleo imidazólico (2).

Se ha supuesto también que la *diazo-reacción de* EHRLICH en la orina, observada en el curso de infecciones graves (tifus, tuberculosis miliar aguda, etc.) era debida a cuerpos de núcleo imidazólico ; así M. WEISS (3) la atribuye al urocromógeno, el predecesor del pigmento normal de la orina o urocromo, que tiene la composición de un polipéptido de cadena cerrada con núcleos imidazólicos, semejante a los llamados ácidos oxiproteínicos. Efectivamente la histidina, y en general los cuerpos que tienen este núcleo, dan un color rojo cereza con las soluciones alcalinizadas de ácido sulfanílico diazotado (4). Sin embargo, la opinión de WEISS no es aceptada por todos : las investigaciones de RONDONI y de SACCARDI inspiradas en los trabajos de ANGELI, que ha demostrado que también el pirrol daba la diazo-reacción, permitirían suponer que el cuerpo que produce la coloración roja con el diazo-reactivo de EHRLICH en la orina de los enfermos con formas infectivas graves con fusión profunda de los tejidos, sea un cuerpo pirrólico (5).

Betaínas. — Con la metilación completa de los aminoácidos se llega a un grupo de derivados cuaternarios del amonio, cuyo representante más sencillo es la *betaína* (de la glicocola), que se llaman en conjunto *betaínas.*

Un aminoácido en solución acuosa puede escribirse así :

$$\begin{array}{l} R - CH - COOH \\ \quad\quad | \\ \quad\quad NH_3 \cdot OH \end{array}$$

(1) *Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionsk.*, vol. LXXXII, pág. 506.
(2) FÜHNER, *Münchn. med. Woch.*, 1912, pág. 852.
(3) *Münchn. med. Woch.*, 1923, n.° 13.
(4) Véanse los trabajos de PAULY, *Zeitschrift für physiol. Chem.*, vol. XLII, XLIV y XCIV.
(5) Véase RONDONI, *Speriment*, 1920, año IV-VI, y SACCARDI, en *Boll. Soc. Eus tach. di Camerino*, año XIX-XX.

y entonces nos aparece como un hidrato de amonio $NH_4.OH$ con un compuesto $(R-\underset{|}{CH}-COOH)$ que sustituye a un átomo de H del amonio. Si ahora sustituímos los otros átomos de H del amonio por grupos metílicos, tendremos una betaína de la fórmula general :

$$\begin{array}{l} R-CH-COOH \\ CH_3 \quad | \\ CH_3 \rangle N-OH \\ CH_3 \end{array}$$

que, por salificación interna, se transforma en :

$$\begin{array}{l} R-CH-COO \\ \qquad\quad | \qquad\quad | \\ (CH_3)_3N \text{———} \end{array}$$

constituyendo así lo que se llama *anillo betaínico*.

La betaína más sencilla es la derivada de la glicocola :

$$\begin{array}{l} CH_2-COOH \\ | \\ (CH_3)_3N-OH \end{array}$$

que se encuentra muy difundida en el reino vegetal, como sucede en general con las betaínas, muy interesantes todas ellas para la bioquímica vegetal, y que cada día adquieren más importancia en bioquímica animal. La betaína de la glicocola se ha encontrado en las glándulas salivales y en los músculos de los cefalópodos, en el *Mytilus edulis*, en varios crustáceos y peces. En los músculos del perro y del caballo se ha encontrado la betaína de la ornitina o *mioquinina*, que tiene por fórmula :

$$\begin{array}{l} (CH_3)_3-N-CH_2-CH_2-CH_2-CH-CO\cdot O \\ \qquad\qquad\quad | \qquad\qquad\qquad\qquad\quad | \qquad\quad | \\ \qquad\qquad OH \qquad\qquad\qquad\qquad (CH_3)_3N\text{———} \end{array}$$

También el organismo animal es, pues, capaz de originar procesos de metilación más completos que el que conduce a la creatina, que es sólo una monometilización. Sin embargo, es cierto que el organismo vegetal, de metabolismo más lento, en el cual los agentes metilantes como el alcohol metílico y el formaldehido tienen más tiempo para formarse y resisten más a las oxidaciones, tiene un poder de metilación superior al animal. Entre los animales parece que son los heterotermos los que poseen un poder más elevado de metilación (cosa muy natural dado su metabolismo menos activo) y por esto contienen frecuentemente betaínas.

La formación de betaínas y el poder metilante en general tendría, según GUGGENHEIM, la significación de un proceso de desintoxicación: los productos tóxicos como el alcohol metílico o el formaldehido, originados a consecuencia de procesos intermedios del metabolismo, reaccionando con derivados amínicos para formar compuestos metilados, serían sustraídos así al medio celular e inactivados.

Parece que las betaínas están relacionadas genéticamente con la colina, y por lo tanto tienen importancia para la síntesis de las lecitinas (STANEK) ; la Fisiología vegetal es quien puede justificar mejor estas relaciones, de las cuales no podemos ocuparnos.

La acción farmacológica de la betaína de la glicocola es mínima o nula : falta también la acción curarizante propia de las bases cuaternarias, a causa del carboxilo próximo al grupo amoniacal. Sin embargo son tóxicas las betaínas derivadas de otros aminoácidos y sobre todo las derivadas de las bases del tipo de la piridina y piperidina : de estas betaínas se pasa a los alcaloides típicos.

Hasta ahora nos hemos ocupado de las betaínas que se derivan de los α-aminoácidos, que se llaman *α-betaínas :* son las que tienen el carboxilo muy vecino al grupo amoniacal metilado (véase la fórmula general). Pero existen también las llamadas *ω-betaínas*, que se derivan de los *ω-aminoácidos*, o sea, de aquellos que no tienen el grupo amínico unido con el carbono más próximo al carboxilo, sino al más elejado de éste. Tomemos como ejemplo el ácido *γ-aminobutírico*, que tiene un grupo amínico terminal y que, por lo tanto es un ω-aminoácido :

$$H_2N\cdot CH_2-CH_2-CH_2-COOH.$$

Si escribimos su fórmula dándole la estructura de base cuaternaria y después la metilamos, tendremos :

$$\begin{array}{l} (CH_3)_3N-CH_2-CH_2-CH_2-COOH, \\ \qquad\quad | \\ \qquad\quad OH \end{array}$$

que es la γ-butiribetaína, con el grupo amoniacal metilado en posición terminal, o sea, una ω-betaína.

A este grupo pertenece la *carnitina* que es la oxibutiribetaína, con la fórmula :

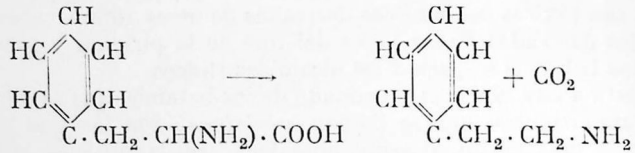
$$\begin{array}{l} (CH_3)_3N-CH_2-CH_2-CH(OH)-COOH \\ \qquad\quad | \\ \qquad\quad OH \end{array}$$

y que se encuentra en el músculo : 0,029 % en la carne muscular de buey, fresca, 0,19 % en la de oveja, 0,17 % en la de caballo. En el extracto de carne se encuentra hasta un 1,3 % (denominada también, a veces, *novaína)*.

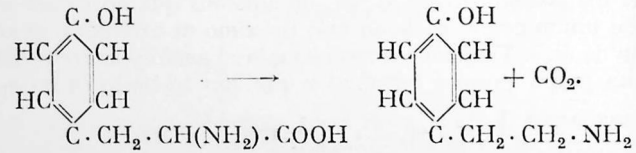
También en la orina de las mujeres se ha encontrado una base, la *reductonovaína*, semejante a ésta y quizás es la butiribetaína.

Mientras muchas α-betaínas son atóxicas, las ω-betaínas están caracterizadas por poseer la acción tóxica de las bases amoniacales, porque en ellas el grupo carboxílico está demasiado lejos del amoniacal para neutralizarlo completamente desde el punto de vista farmacológico.

Fenilalquilaminas y fenilalcanolaminas. — Son aminas en las cuales el grupo aromático produce modificaciones considerables de las propiedades biológicas propias de las alquilaminas y alcanol·minas de cadena abierta. Es fácil ver que la feniletilamina y la p-oxifeniletilamina derivan de aminoácidos :

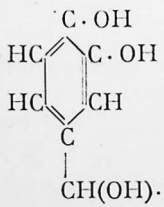


Fenilalanina — Feniletilamina



Tirosina — p-Oxifeniletilamina o tiramina

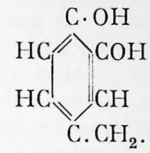
Pero existe otra importantísima base de este grupo, la adrenalina, cuyo aminoácido generador no es bien conocido. La adrenalina es :



es decir, una dioxifeniletanolmetilamina. Se ve que en ella existe un anillo pirocatéquico, o sea el de un difenol con los dos hidroxilos en posición orto, y que este núcleo lleva una cadena lateral hidroxilada y metilada.

En la Naturaleza sólo se encuentra una substancia que tiene analogía con la adrenalina y que algunos consideran como la substancia

madre de ésta, pero que hasta ahora sólo se ha hallado con seguridad en el reino vegetal : es la *oxitirosina* o *dioxifenilalanina* (abreviadamente *dopa*, según los autores que han estudiado sus relaciones genéticas con las melaninas y con la adrenalina). Esta dioxifenilalanina fué aislada por TORQUATI (1) de la *Vicia faba*, y GUGGENHEIM determinó (2) su naturaleza precisa de aminoácido :



De ésta podría pasarse a la adrenalina mediante hidroxilación, descarboxilización y metilación en la cadena lateral, operaciones todas éstas que sabemos pueden realizarse en el protoplasma viviente.

Como ha sido reconocido por BARGER y DALE, las fenilalquilaminas y fenilalcanolaminas tienen una marcada acción simpáticotónica, que alcanza su máximo en la adrenalina. Puede admitirse que la molécula de ésta tiene una estructura en condiciones óptimas para obrar sobre las terminaciones del simpático, y que una substancia poseerá esta acción con tanta mayor claridad cuanto más se parezca a la adrenalina.

En general, estas aminas son tanto más lábiles (oxidables) cuanto más hidroxilos fenólicos contienen. La oxidabilidad, pues, crece en este orden : feniletilamina, oxifeniletilamina, adrenalina.

La feniletilamina es un producto frecuente de la putrefacción de los albuminoides que contienen mucha fenilalanina (caseína), lo cual explica la proporción elevada que se encuentra en los quesos muy madurados, tipo Emmenthal.

En el organismo animal no es fácil encontrar esta base, ni aun después de haberla introducido experimentalmente, por ser muy rápida su desaminación y oxidación : se forma la cantidad correspondiente de ácido fenilacético y, quizás, alcohol feniletílico como producto intermedio :

$$C_6H_5 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot NH_2 \rightarrow C_6H_5 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot OH \rightarrow C_6H_5 \cdot CH_2 \cdot COOH$$

La acción simpáticomimética es bastante clara, más que en las aminas de la serie grasa, y se manifiesta por el aumento de la presión arterial, midriasis, inhibición del tono y del ritmo en el útero virgen (de gata) y relajación de la vejiga urinaria (en el gato).

La tiramina o *p-oxifeniletilamina* es un producto frecuente de la putrefacción de las proteínas ricas en tirosina, como por ejemplo la

(1) *Arch. farmacol. sper.*, vol. X y XV, 1910-1913.
(2) *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. LXXXVIII.

caseína ; de ahí su presencia en la carne y páncreas en putrefacción, en el queso pasado, etc. También el *B. coli* puede transformar abundantemente la tirosina en tiramina. En el cornezuelo de centeno se encuentra tiramina en abundancia, que es también proteinógena, pues es debida al bioquimismo del *Claviceps purpurea*. Se encuentra en la secreción salival de la sepia, donde sirve quizás para paralizar la presa. Así como el *B. coli* y otros gérmenes de la flora intestinal pueden producir tiramina, también es probable que esta base pueda ser absorbida en el tubo intestinal y pasar a la sangre y a los tejidos del hombre ; pero la existencia en ellos y en la orina es poco verosímil (GUGGENHEIM) porque es rápidamente oxidable y destruída en el cuerpo de los animales superiores. De todos modos es posible que, por un aumento de los procesos de putrefacción intestinal, pase al organismo una cantidad mayor que la normal y produzca acciones *crónicamente tóxicas*, antes de ser destruída : vuelve así a precisarse químicamente el concepto de autointoxicación intestinal. IWAO (1) vió que la inyección subcutánea repetida de tiramina en el cobayo da lugar a cuadros graves de anemia, de tipo pernicioso ; algo parecido han observado HESS y MÜLLER (2) ; DALE y DIXON (3) han estudiado a fondo la acción fisiológica de la tiramina, que es aún más claramente simpáticomimética que la feniletilamina (cerca de cinco veces más intensa) a causa del hidroxilo presente en la molécula de aquélla. DALE y DIXON llegaron a experimentarla en ellos mismos : 0,01 gr. produce aumento de la presión arterial, sensación de tensión y pesadez en la cabeza, enrojecimiento de la cara, respiración más profunda, refuerzo del latido cardíaco, y necesidad frecuente de orinar : no origina midriasis. Este cuerpo es usado en Terapéutica (acción excitadora sobre el útero grávido) por ser un excitante moderado del simpático, sin gran toxicidad.

La adrenalina (véase fórmula más arriba) es una de las hormonas mejor conocidas y más importantes, y la substancia de acción simpáticomimética más acentuada. Por su importancia debemos insistir sobre ella. Hemos resumido ya la hipótesis, sostenida especialmente por BLOCH (4), de su origen de los cuerpos que contienen el núcleo de la pirocatequina, correspondientes a la dioxifenilalanina u oxitirosina, que, sin embargo, no ha sido hallada con seguridad en el organismo animal.

La adrenalina se encuentra esencialmente en el sistema cromafínico y especialmente en la porción más considerable de éste, que constituye la capa medular de las glándulas suprarrenales. La cantidad presente y dosificable (por los métodos biológicos, esto es, por la experimentación de su acción hipertensiva en el perro o en el conejo en estado de narcosis y con los vagos seccionados) se calcula para cada

(1) *Bioch. Zeitschr.*, vol. LIX, 1914.
(2) *Wiener klin. Woch.*, 1918, pág. 293.
(3) *Journ. of. Physiol.*, vol. XXXIX.
(4) *Arch. f. Dermatol. u. Syphilis*, vol. CXXIV, 1917.

suprarrenal en pocos milígramos (4-6), y baja seguramente a consecuencia de infecciones agudas, en ciertas intoxicaciones, en algunas alimentaciones incompletas (escorbuto) en el ayuno (RONDONI, PEISER), mientras que aumenta en las nefritis, arterioesclerosis, en ciertas alimentaciones incompletas (beriberi), etc. (1).

La proporción de adrenalina contenida en la sangre es muy difícil de precisar, porque en el suero, como en el plasma, se encuentran substancias vaso-constrictoras de acción bastante parecida a la suya, lo que dificulta el reconocimiento seguro de esta base : muchos datos clínicos sobre la *hiperadrenalinemia* en varias enfermedades (enfermedad de Basedow, nefritis, etc.) tienen, por lo tanto, muy poco valor. Se ha encontrado adrenalina en la secreción salival de un sapo *(Bufo agna)*.

La adrenalina natural es levógira, forma laminillas finísimas con punto de fusión a 212°; es poco soluble en agua, un poco más en caliente e insoluble en alcohol y éter. Se disuelve bien en los ácidos orgánicos e inorgánicos porque, teniendo caracteres básicos bien marcados, forma con facilidad sales solubles. Es soluble en sosa cáustica, pero no en amoníaco. Si ha sido obtenido sintéticamente, se presenta en la forma racémica divisible en los dos antípodas ópticos ; la variedad d- tiene una actividad fisiológica mucho menor. En solución acuosa neutra da con el cloruro férrico una hermosa coloración verde esmeralda (como la pirocatequina), que se vuelve azul y después roja si se alcaliniza prudentemente con sosa. Al aire se oxida con mucha facilidad y la solución toma color rojo ; la reacción alcalina facilita la oxidación, pero la reacción ácida la impide Los halógenos, las soluciones amoniacales de plata, el agua oxigenada, el ferricianuro potásico, en una palabra todos los agentes oxidantes, aceleran la oxidación de la adrenalina y por lo tanto la aparición del color en sus disoluciones, quizás por formarse algunos productos de condensación coloreados. También en el organismo se oxida rápidamente, a lo que contribuye la alcalinidad de la sangre. Por lo tanto su acción fisiológica simpáticomimética es de breve duración. Varias oxidasas naturales (hongos, patatas) y animales (tumores melánicos) parece que aceleran la oxidación de la adrenalina, dando lugar al oscurecimiento de las soluciones.

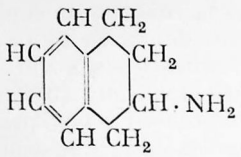
Es notable la acción antitóxica de esta base, respecto a las toxinas tetánica y diftérica.

El tratamiento repetido con pequeñas dosis de l-adrenalina natural o mejor con d-adrenalina sintética, poco activa, aumenta la resistencia de los animales para las altas dosis tóxicas o mortales de l-adrenalina : este fenómeno de adaptación a la base es debido a que se produce una insensibilidad de los substratos receptores (terminaciones simpáticas) y también quizás a una exaltación de los poderes orgánicos de oxidación y destrucción de la base.

(1) Se encuentran numerosos datos en SCHMORL y INGIER, en *Münch mediz. Woch.*, 1911.

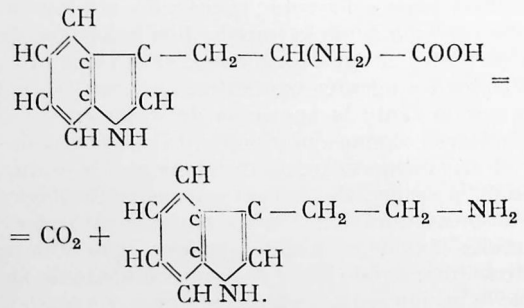
No haremos más que citar la acción *tóxica crónica* de la adrenalina que conduce a fenómenos de mesoarteritis difusa en los conejos y otros animales, de cierta analogía con la arterioesclerosis humana.

Podemos mencionar en este grupo de bases la *tetrahidronaftilamina*, que tiene por fórmula :

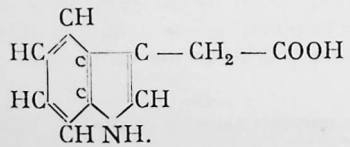


y que también posee acción excitante para muchas manifestaciones del simpático. Tiene particular interés porque excita la termogénesis, probablemente en virtud de una influencia sobre el centro hipotalámico correspondiente. Ha sido bastante estudiada la *fiebre experimental provocada por la tetrahidronaftilamina*.

Indoletilamina. — Es la amina derivada del triptófano por pérdida de CO_2, igual como la tiramina procede de la tirosina. Esta descarboxilación se verifica fácilmente por las bacterias de la putrefacción. También puede obtenerse la indoletilamina calentando el triptófano por encima de su punto de fusión :



No se sabe si en el metabolismo intermedio de los animales superiores, el triptófano puede experimentar esta transformación. En la orina se ha encontrado con seguridad ácido indolacético :



que puede derivar de la indoletilamina producida en el metabolismo intermedio o, mucho más probablemente, de indoletilamina de origen intestinal o putrefactivo. De todos modos la transformación de la indoletilamina podría verificarse, a través de la fase de alcohol indoletílico (por desaminación), oxidándose hasta ácido indolacético. He aquí la transformación que puede admitirse en la cadena lateral :

$$\underset{\text{Indoletilamina}}{\text{Ind.-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2} \rightarrow \underset{\text{Alcohol indoletílico}}{\text{Ind.-CH}_2\text{-CH}_2\text{OH}} \rightarrow \underset{\text{Ácido indolacético}}{\text{Ind.-CH}_2\text{-COOH.}}$$

Desaminación — Oxidación

Según este mismo esquema serían también transformadas la tiramina y la feniletilamina. El derivado acético es eliminado en parte por las vías urinarias y en parte destruído posteriormente, con formación sucesiva de productos diversos (indol, escatol, ácido indolcarbónico, etc.).

El reconocimiento del ácido indolacético en la orina tiene interés porque muchas veces no se encuentra libre sino combinado con la glicocola, en forma de *ácido indolacetúrico :* ejemplo de una reacción sintética, de fines antitóxicos.

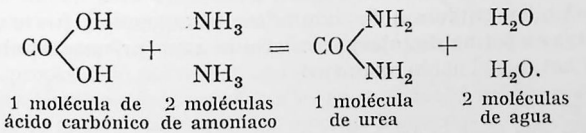
El ácido indolacetúrico parece ser el productor de la llamada *reacción de la uroroseína* en la orina (1) : añadiendo a la orina $^1/_{10}$ de su volumen de ácido clorhídrico al 25 % y una o dos gotas de nitrito sódico al 1 %, aparece una coloración roja.

La indoletilamina tiene una acción farmacológica y tóxica bien estudiada por Ewins y Laidlaw (2) : hipertensión, convulsiones clónico-tónicas, temblor y secreción salival abundante.

m) Otros derivados proteicos (amidas, etc.).

No haremos más que recordar aquí, porque ya lo hemos tratado en otro lugar (pág. 105), que ciertas amidas se encuentran probablemente incluídas en la molécula proteica (N de las amidas).

Sin embargo, nos vemos obligados a insistir sobre el principal producto terminal del metabolismo proteico de los mamíferos, la *urea* o *carbamida*, que puede considerarse como la amida del ácido carbónico :



1 molécula de ácido carbónico — 2 moléculas de amoníaco — 1 molécula de urea — 2 moléculas de agua

Se encuentra en abundancia en la orina, en pequeña cantidad en la sangre y en los tejidos. Es notable la abundancia de urea en la san-

(1) Herter, *Journ. of biol. Chem.*, vol. IV.
(2) *Biochem. Journ.*, vol. VI y VII.

gre de los peces cartilaginosos. Aparece en forma de prismas largos, con puntos de fusión a 132° ; muy soluble en agua, menos en alcohol. Con ácidos, en caliente, y calentándola bajo presión se hidroliza en ácido carbónico y amoníaco ; también ciertas enzimas, como la *ureasa* de las semillas de soja, la *ureasa* de muchas bacterias, etc., realizan esta escisión hidrolítica.

La orina en putrefacción, desarrolla un olor amoniacal y desprende efectivamente NH_3 porque las bacterias que en ella vegetan producen la hidrólisis de la urea. La hidrólisis por acción de la ureasa (existen en el comercio ureasas preparadas), seguida de la dosificación del NH_3 formado, sirve como método analítico para dosificar la urea en la orina o en la sangre (Parte. III).

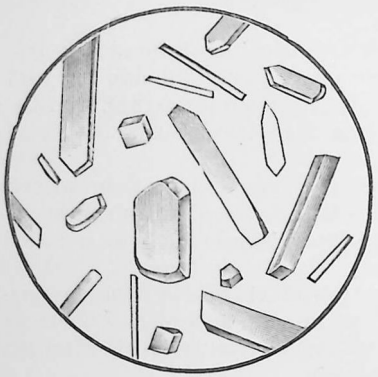


FIG. 8. Cristales de urea.

Por la acción del ácido nitroso y del ácido hipobromoso, la urea se desintegra desprendiendo su N en estado gaseoso (1) y cómodamente medible (método de HÜFNER, ESBACH, etc., para la dosificación de la urea).

Recordemos las relaciones de origen, desde el punto de vista químico y quizás biológico, de la urea con el ácido ciánico : CNOH. Es ya célebre la antigua observación de WÖHLER, que el cianato de amonio produce urea cuando se calienta :

$$CNO \cdot NH_4 \longrightarrow CO\begin{matrix}NH_2\\NH_2\end{matrix}.$$

La urea, calentada en seco, produce el *biuret*, con desarrollo de NH_3 (pág. 112).

La urea forma, como base debilísima, algunas sales *(ureidos)* con varios ácidos : nitrato de urea, fácilmente obtenible añadiendo una gota de HNO_3 concentrado a una solución de urea en un vidrio de reloj (cristales en forma de laminillas hexagonales, frecuentemente dispuestas en forma de tejas) ; oxalato de urea (prismas rómbicos cortos). Es notable el ácido oxalúrico :

(1) He aquí cómo se desarrolla la reacción de la urea con el reactivo de ESBACH (NaBrO + NaOH) :

$$CO(NH_2)_2 + 3\ NaBrO = CO_2 + 3\ NaBr + 2\ H_2O + N_2 ;$$

pero el único gas que permanece libre es el N_2, porque el CO_2 reacciona con la lejía de NaOH y se disuelve en ella :

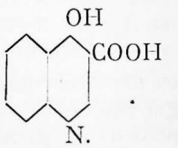
$$CO_2 + 2\ NaOH = Na_2CO_3 + H_2O.$$

$$CO\begin{matrix}NH_2\\NH\cdot CO\cdot COOH,\end{matrix}$$

que puede encontrarse en la orina normal (en forma de sal amónica).

Deben citarse aquí *otros derivados* de la desintegración proteica, y ante todo aquellos que pueden considerarse como *procedentes del triptófano*, constituyente de tantos albuminoides.

En el organismo del perro, el triptófano experimenta una transformación especial en el metabolismo intermedio, por la cual aparece en pequeña cantidad en la orina en forma de *ácido quinurénico :* éste es un cuerpo con un núcleo quinolínico, y es precisamente el ácido γ-oxi-α-quinolincarbónico, que tiene la siguiente fórmula (simplificada):



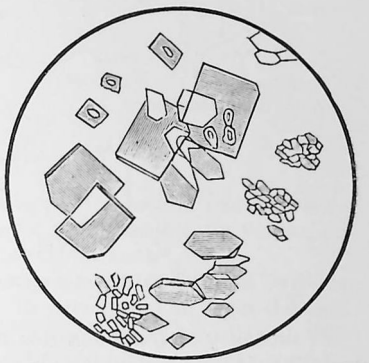
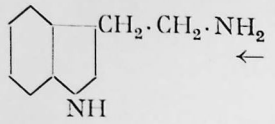


FIG. 9. Cristales de nitrato de urea.

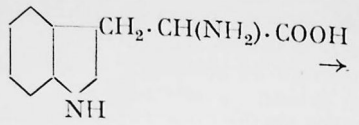
Junto con la *salamandrina*, el veneno de la piel de la salamandra, y con poquísimos otros cuerpos, este ácido, contenido frecuentemente en la orina del perro en la cual puede aumentarse administrándole triptófano, es un representante exclusivo en el metabolismo animal de los cuerpos con núcleo quinolínico. En el reino vegetal, por el contrario, es mucho más frecuente que de las proteínas se formen cuerpos con núcleo pirídico o quinoleico, como los alcaloides.

En el intestino del hombre y de todos los animales superiores el triptófano experimenta las modificaciones producidas por los gérmenes de la putrefacción Uno de los mecanismos lo hemos estudiado al hablar de la formación de la indoletilamina, pero existen otros de gran importancia para el médico, porque los cuerpos derivados pasan a la circulación y, convenientemente acoplados *(síntesis antitóxica)*, son eliminados por la orina, en la que constituyen un indicio bastante fiel de los procesos de putrefacción intestinal

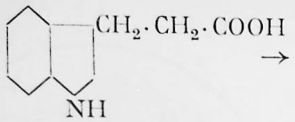
Por desaminación del triptófano se pasa al ácido indolpropiónico ; de éste, por la acción ulterior de los agentes bacterianos, al ácido indol acético, con un átomo menos de carbono ; después, por descarboxilación, al *β-metilindol* o *escatol* y, finalmente, por pérdida del grupo metílico, al *indol*. He aquí un cuadro de las probables transformaciones del triptófano durante la putrefacción (con fórmulas simplificadas), serie importante de la Química orgánica :



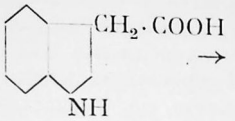
Indoletilamina
(v. párrafo prec.)



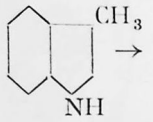
Triptófano



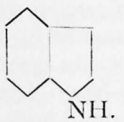
Ácido indolpropiónico



Ácido indolacético

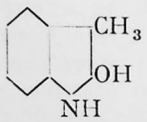


β-metilindol o escatol

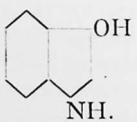


Indol

El escatol y *el indol* son dos componentes urinarios importantes, que, además, se encuentran en cualquier lugar donde se produzca la acción de las bacterias sobre las proteínas (focos de gangrena). Basta, por ahora, con decir que no son eliminados directamente, sino oxidados primero, pasando respectivamente a *escatoxilo* e *indoxilo :*

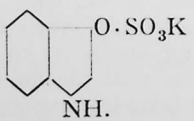


Excatoxilo

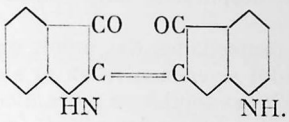


Indoxilo

Estos cuerpos se combinan (con eliminación de una molécula de agua) con ácido sulfúrico o con ácido glicurónico, en forma de *ésteres* que aparecen en la orina. Parece que la oxidación del núcleo indólico hasta indoxilo se verifica en el hígado, y quizás también el acoplamiento con los ácidos dichos : he aquí como ejemplo la fórmula simplificada del éster sulfúrico del indoxilo o ácido indoxilsulfúrico, que aparece en la orina en forma de sal potásica (indoxilsulfato de K) :



La conocida *reacción del indicán* (Jaffé) en la orina sirve precisamente para reconocer este éster del ácido sulfúrico (o glicurónico) con los derivados oxidados del indol. Efectivamente, consiste en acidificar primero bastante enérgicamente para romper la unión etérea y separar así el derivado indólico, por ejemplo, el indoxilo ; por la acción de un oxidante débil (percloruro de hierro, cloruro de cal, etc.) se combinan los complejos indoxílicos de dos en dos, formando *azul de índigo*, que es extraído por el cloroformo, el cual se tiñe de azul más o menos intenso.

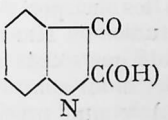


Este azul de índigo es insoluble en agua y reducible (con polvo de zinc y álcali) a blanco de índigo, soluble y susceptible de volverse a oxidar en contacto del aire, regenerando el color azul.

Es necesario que al verificar la reacción del indicán se evite la oxidación demasiado enérgica, porque de otro modo en lugar del azul de índigo se forman derivados incoloros por oxidación ulterior. Por esto no debe recomendarse el empleo del ácido nítrico como oxidante, porque éste llega a decolorar el índigo (reacción empleada en Química para reconocer el HNO_3).

En las orinas que contienen gran cantidad de ésteres indoxilsulfúricos, a veces éstos se escinden antes o poco después de la micción, y el indoxilo se oxida por sí sólo en contacto del aire, produciéndose una *formación espontánea de azul de índigo* (orinas azuladas o negras) (1).

Por oxidación enérgica del indoxilo puede obtenerse la *isatina* :



que es amarillenta, pero puede posteriormente combinarse con indoxilo y formar *rojo de índigo* o *indirrubina.* Los derivados de oxidación del escatol son también rojos. A la formación de rojo de índigo o de derivados escatólicos se debería la *reacción de* Rosenbach en ciertas

(1) La reacción del indicán es intensamente positiva en la orina de los individuos en los cuales está aumentada la formación de los derivados del triptófano por putrefacción, lo cual es indicio de que las putrefacciones intestinales son más intensas que en estado normal. En este último caso la orina acostumbra a contener una cantidad de productos indólicos demasiado pequeña para que pueda ser revelada por el método de Jaffé. — *N. del T.*

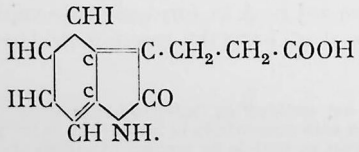
orinas : hirviendo la orina con HNO_3 se obtiene una coloración rojo Burdeos, con espuma rojo violeta ; este color de la espuma es característico. Añadiendo luego prudentemente hidrato sódico o amoníaco, se obtiene un color rojo azulado. Las orinas que dan esta reacción muchas veces ya poseen naturalmente un color algo rojizo o adquieren este color en frío por la simple adición HNO_3.

No se sabe qué relación existe entre estos cuerpos y otro pigmento rojizo de la orina, la *uroeritrina*, que colorea en rojo ladrillo los sedimentos urinarios y es particularmente abundante en las orinas febriles de los gotosos, después de haber sudado mucho, de comidas copiosas, etc.

Citemos algunas propiedades del indol, dignas de ser conocidas por el biólogo. El indol se encuentra en el alquitrán y cristaliza en laminillas fusibles a 52° ; es soluble en agua, alcohol, éter y cloroformo; tiene un olor penetrante ; es una base débil (grupo NH) ; sus vapores enrojecen una astilla de pino mojada con ácido clorhídrico (reacción del pirrol : el indol no es más que el benzopirrol). Da la *reacción del nitrosoindol :* con algunas gotas de ácido nítrico y de solución de nitrito sódico o potásico al 1 $^0/_{00}$, se obtiene un color rojo y algunas veces un precipitado rojo de nitrato de nitrosoindol. Da también la reacción siguiente (de EHRLICH) : añadiendo a una solución de indol la mitad de su volumen de solución alcohólica al 2 % de p-dimetilaminobenzaldehido y después, gota a gota, ácido clorhídrico al 25 %, se obtiene una coloración roja que se oscurece al agregar algunas gotas de solución de nitrito sódico al 0,5 %.

El *escatol* o β-metilindol se presenta en laminillas incoloras que funden a 95° ; es un poco menos soluble que el indol ; tiene *olor fecal*. La reacción de la astilla de madera de pino es positiva ; con ácido nítrico y nitrito, se obtiene un precipitado blanco ; en la reacción con el p-dimetilamidobenzaldehido, se obtiene una coloración azul violeta que se vuelve claramente azul añadiendo nitrito.

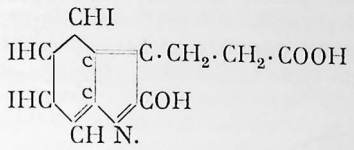
Antes de terminar con los cuerpos de núcleo indólico, debemos también añadir que los estudios de KENDALL (1) y KENDALL y OSTERBERG (2) han demostrado que existe una hormona tiroidea constituída por un derivado del indol con el núcleo bencénico reducido (parcialmente hidrogenado) y que precisamente este cuerpo, que KENDALL llamó *tiroxina*, tiene analogía con el triptófano, por ser un ácido indolpropiónico :



(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XXXIX.
(2) *Id.*, vol. XL.

Esta tiroxina es, pues, un ácido trihidrotriyodooxi-β-indolpropiónico.

La fórmula representada es la de tipo cetónico (grupo CO), pero la tiroxina aparece también en forma enólica, así :



Actualmente se duda de que sea ésta la verdadera constitución de la tiroxina.

Forma sales con los metales ; es insoluble en las disoluciones acuosas ácidas (también el CO_2 la precipita), y soluble, en los álcalis.

Así como del triptófano derivan estos cuerpos indólicos, de otros aminoácidos procedentes de la molécula proteica se originan también otros compuestos ; por ejemplo, de la fenilalanina resulta el ácido fenilpropiónico por desaminación, luego el fenilacético, y de éste el benzoico :

$$C_6H_5\cdot CH_2\cdot CH(NH_2)\cdot COOH \longrightarrow C_6H_5\cdot CH_2\cdot CH_2COOH \longrightarrow C_6H_5\cdot CH_2\cdot COO \longrightarrow C_6H_5\cdot COOH\ ;$$

y de la tirosina tenemos los ácidos *oxiaromáticos* correspondientes :

$$OH\cdot C_6H_4\cdot CH_2\cdot CH(NH_2)\cdot COOH \text{ tirosina} \longrightarrow$$
$$OH\cdot C_6H_4\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot COOH \text{ ácido oxifenilpropiónico} \longrightarrow$$
$$OH\cdot C_6H_4\cdot CH_2\cdot COOH \text{ ácido oxifenilacético ;}$$

del cual se derivan los cresoles $OH\cdot C_6H_4\cdot CH_3$ y fenoles $C_6H_5\cdot OH$.

Estos compuestos terminales, como el ácido benzoico, los cresoles y los fenoles, son copulados de distintas maneras para impedir que con su toxicidad dañen al organismo. El fenol y el cresol se acoplan con ácido sulfúrico (en menor escala con ácido glicurónico) igual que los derivados indólicos, y son eliminados después en forma de fenol —o cresol— sulfatos alcalinos (el organismo *se defiende* también contra el fenol introducido del exterior uniéndolo —probablemente en el hígado— con sulfatos y eliminándolo por la orina cuando está combinado con éstos) El ácido benzoico encuentra otra substancia con que unirse, que es la glicocola, con la cual constituye la benzoilglicocola o *ácido hipúrico* :

$$C_6H_5\cdot COOH + NH_2\cdot CH_2\cdot COOH = C_6H_5\cdot CO\cdot NH\cdot CH_2\cdot COOH + H_2O.$$

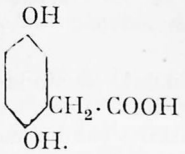
Este ácido se encuentra también en pequeña cantidad en la orina del hombre. Pero como es en los herbívoros donde el organismo se

encuentra invadido por fuertes cantidades de ácido benzoico, no debido a procesos de putrefacción, sino procedente en gran parte de los alimentos vegetales en los cuales existe preformado, sus orinas y las de los omnívoros sometidos a régimen vegetariano contienen mucho ácido hipúrico. Esta reacción típica de síntesis con fines protectivos parece que, por lo menos en el perro, puede realizarse ampliamente en el riñón.

Citemos, solamente para completar, el *ácido hidroquinacético* u *homogentisínico*, que tiene la fórmula (simplificada) :



FIG. 10. Cristales de ácido hipúrico.



Aparece en la orina en una cierta anomalía del metabolismo intermedio *(alcaptonuria* ; véase a propósito del metabolismo intermedio proteico) y le comunica la singular propiedad de ennegrecerse en contacto del aire porque se oxida fácilmente. Es un fuerte reductor.

Finalmente debemos hacer mención de algunas substancias que contienen azufre, también de origen proteico. El S está contenido en las proteínas en forma de l-cistina, como ya se ha visto, y la cistina (laminillas hexagonales, insolubles en agua, alcohol y ácido acético diluído, solubles en ácidos fuertes y en álcalis) puede aparecer en la orina *(cistinuria)*.

HOPKINS ha encontrado en muchos tejidos un dipéptido de cisteína y ácido glutámico, llamado *glutationa* que es un cuerpo fácilmente oxidable (cisteína → cistina) y reducible y que parece tener una gran importancia en los procesos de oxidación celular (Parte II, Sección II).

De la cistina se deriva, por oxidación del grupo SH y descarboxilación, la *taurina* o *ácido aminoetansulfónico* :



La taurina forma cristales solubles en agua caliente, insolubles en alcohol y éter ; se encuentra libre en los músculos de los moluscos y en la sangre de algunos peces cartilaginosos. En los vertebrados superiores se halla sólo en la bilis, unida al ácido colálico o cólico (ácido taurocólico).

n) MELANINAS NATURALES.

Las *melaninas* son pigmentos oscuros o negros, que se encuentran en forma granular en el interior de diversas células, y son frecuentemente de origen ectodérmico. Se conocen melaninas en los tegumentos (en las células de la capa malpigiana de la piel, quizás en elementos especiales — melanoblastos — destinados especialmente a su formación) en el ojo (coroides), en el sistema nervioso central (en los vertebrados inferiores existen células con pigmento melánico en el eje nervioso, especialmente en las meninges). Las melaninas son los pigmentos que colorean el pelo y las demás formaciones anexas a la piel.

Se conocen además las melaninas de los naevus y de los *tumores melánicos* (melanocarcinoma y melanosarcoma). Han sido muy estudiadas las melaninas, de los sarcomas melánicos de los caballos blancos, las llamadas *hipomelaninas* (JAEGER), las cuales no se encuentran primitivamente en las células epiteliales sino en las conjuntivas.

En la piel, las melaninas se forman de una manera más rápida y con mayor abundancia bajo la influencia de la luz, por lo que se ha supuesto que tienen una función defensiva contra los rayos luminosos y especialmente contra los ultravioleta. Es notable que ciertos venenos excitan también la formación de la melanina (melanosis arsenical), quizás acelerendo la desintegración proteica con la consiguiente liberación de los constituyentes melanógenos de las proteínas. Actualmente se consideran próximas a las melaninas las llamadas *lipofuscinas* o *pigmentos de desgaste* de los órganos (corazón, varios músculos lisos, etc.) en estado de *atrofia parda* y de las células nerviosas en la vejez y en varios estados patológicos, aunque estos pigmentos tienen ciertas propiedades de los lipoides : quizás se trata de cuerpos melánicos íntimamente mezclados con lipoides.

Las melaninas, con los lipocromos, son los pigmentos más difundidos en el reino animal.

Las melaninas contienen C, N, O, H y quizás S (impurezas ?) ; generalmente están exentas de Fe y por esto debe estudiarse aparte de ellas el pigmento ferruginoso del *locus niger*, del núcleo pálido y de la *substantia nigra*, es decir, de ciertas regiones pigmentadas del sistema nervioso central del hombre y de los animales superiores, en cuyos pigmentos parece que existe hierro. También debe considerarse por separado de las melaninas ordinarias la llamada *melanina malárica* que es un derivado de la hemoglobina del glóbulo rojo, formado por la actividad metabólica del hematozoario parásito del mismo glóbulo ; parece, sin embargo, que la melanina malárica no contiene hierro. Los estudios químicos más numerosos sobre las melaninas han sido hechos con la melanina de los cabellos, con la tinta de la sepia y con la melanina de los tumores.

Las melaninas están caracterizadas por su gran resistencia a los agentes químicos : son insolubles en agua, en los ácidos y en casi todos los reactivos, excepto en los álcalis bastante concentrados ; se disuelven en éstos con diversa facilidad, carácter que sirve para diferenciarlas entre sí. Las melaninas por efecto de los oxidantes pueden decolorarse más o menos (H_2O_2) y, por períodos intermedios de oxidación, adquirir color amarillo, azul, etc. ; recuérdese la acción del agua oxigenada sobre la piel.

Ya se ha dicho que se forman cuerpos oscuros en la hidrólisis de las proteínas por medio de los ácidos (cuerpos húmicos), probablemente por condensación de los grupos cíclicos de la molécula proteica (1). Según las numerosas investigaciones de V. Fürth, Neuberg, Jaeger, Meirowski, Samuely, Angeli, etc., parece demostrado que también las melaninas naturales derivan de la oxidación y condensación de los componentes cíclicos de la molécula albuminoidea.

¿ Cuáles son los cuerpos cíclicos naturalmente capaces de formarse en la desintegración de la molécula proteica que, oxidándose y condensándose después, dan lugar a la formación de estos edificios moleculares probablemente complejos, que constituyen las melaninas ? Esto equivale a preguntar, cuáles son los *melanógenos naturales*, las verdaderas substancias madres de las melaninas.

Tiene aún muchos partidarios la teoría, sostenida especialmente por V. Fürth, de la génesis de la melanina a expensas de la tirosina, apoyada en la noción de que realmente en varios tejidos animales y vegetales parece que existen enzimas capaces de oxidar la tirosina y condensarla en productos negros o coloreados *(tirosinasas)*. V. Fürth vió, efectivamente, que un extracto de la glándula secretora de la tinta de la sepia, por lo tanto de un órgano melanógeno, puesto en contacto con tirosina, la ennegrece y hasta puede llegar a formar un precipitado negro. Según esta teoría, un poco simplista, pero clara, la melanina se originaría de la proteína por estos dos mecanismos : 1.°, desintegración proteica con liberación de tirosina ; 2.°, oxidación y condensación de ésta hasta formar la melanina.

Neuberg, Jaeger y algún otro, ponen en evidencia el hecho de que los extractos de tumores melánicos oxidan y colorean rápidamente la adrenalina o la oxifeniletilamina, y consideran a éstas como las substancias madres de la melanina. Bloch (2), da importancia a la dioxifenilalanina (pág. 101) como melanógeno : este autor demostró que los cortes de piel tratados con solución de *dopa* (abreviación de la dioxifenilalanina), presentan una evidente coloración negra y granular de los melanoblastos, y admite por lo tanto una *dopaoxidasa*, que debería oxidar y ennegrecer precisamente la dopa, la cual, por lo tanto, sería la substancia destinada a experimentar electivamente

(1) Al tratar los azúcares con álcalis se forman cuerpos oscuros, llamados *ácidos húmicos* que también derivan de la condensación de anillos atómicos iy, según parece, precisamente de anillos furánicos.

(2) *Arch. f. Dermat. u. Syphilis.*, vol. CXXIV, 1917.

la acción de aquella oxidasa, y en consecuencia sería probablemente el compuesto natural precursor del pigmento en la célula. Existe una extensa bibliografía acerca de la *doparreacción :* sin embargo, se discute su especificidad y el mismo Bloch no ha conseguido demostrarla en tejidos ciertamente melanógenos, como los oculares. No parece, pues, que exista un paralelismo constante entre la aptitud de la célula para oxidar la dopa, por presencia de una presunta dopa-oxidasa, y la actividad melanógena. En los trabajos de Lignac (1) y Merowsky (2), se encuentra una crítica de la teoría de Bloch. Lo que quizás podemos conservar de esta doctrina, como hipótesis interesante, es la idea de que las melaninas derivan de substancias (de núcleo pirocatéquico) que tienen analogías y relaciones de origen con la adrenalina ; esto puede ponernos en camino de comprender que si, por efecto de lesiones suprarrenales, disminuye la conversión de las substancias madres en adrenalina, queda de aquéllas una cantidad mayor que la normal para formar pigmento, lo cual explicaría la melanosis dérmica tan acentuada en las afecciones suprarrenales (enfermedad de Addisson). Las relaciones de origen estarían, expresadas en el siguiente esquema :

Substancias madres comunes (de núcleo pirocatéquico, según Bloch ?) ..... → adrenalina (en las células cromafínicas), → melanina (en los melanoblastos)

Otros creen que el triptófano es la substancia madre de la melanina: recientemente Quattrini (3) ha obtenido la pigmentación cutánea de la piel de los conejos con derivados pirrólicos y también con derivados indólicos, como especialmente el α-metilindol.

Lignac desarrolla ampliamente, en la monografía ya citada, la opinión de que las melaninas son resultado de la condensación de cuerpos quinónicos. Estudia, analizándolo minuciosamente, el conocido fenómeno de la formación de melanina en pedazos de piel separada del cuerpo y hasta fijada en formol, por la influencia de temperaturas de 55° y de la luz, hechos que excluirían la intervención de verdaderas enzimas, si es que la formación post-vital de melanina tiene alguna relación con el mecanismo natural y vital.

Una teoría, debida a un químico italiano, A. Angeli, se encuentra actualmente en estudio y se ve apoyada por numerosos hechos experimentales. Angeli y algunos colaboradores (4) han estudiado pro-

(1) *Over Vorming en Afbraak von Huidpigment*, Leyden. *Inaug. Dissert.* ; *Virchow's Arch.*, vol. CCXL, 1923.

(2) *Centralbl. d. Haut- und Geschlechtkrank.*, vol. VIII, fasc. 3.

(3) *Giornale ital. malattie veneree e della pelle*, 1923.

(4) *Gazz. chim. ital.*, vol. XLVI, parte II, fasc. 4 ; *Rendic. Reale Accad. dei Lincei*, vol. XXIV, 2.° semestre, 1915 ; vol. XXVII, serie 5.ª, 1.° y 2.° semestre 1918 ; vol. XXVIII, serie 5.ª, 1.er semestre 1918 ; vol. XXIX, serie 5.ª, 1.er semestre 1920.

fundamente el llamado *negro de pirrol*, comparándolo con la melanina. El pirrol, oxidado débilmente (con perhidrol en solución acética, con bicromato de K y ácido sulfúrico, etc.) se condensa en productos negros, en los cuales las proporciones recíprocas de C, N y H son muy semejantes a las encontradas en el análisis de las melaninas fisiológicas y neoplásicas. También los negros de pirrol son, como éstas, insolubles en varios reactivos, excepto los álcalis. De esto deduce la *teoría de* ANGELI, que las melaninas provienen preferentemente de la oxidación y condensación de los núcleos pirrólicos que sabemos que existen en la molécula proteica o que pueden fácilmente formarse también de otros compuestos. Podría suceder, según una hipótesis genial de ANGELI, que cuando las melaninas se forman de la tirosina o de otros cuerpos con núcleo bencénico, experimenten una primera modificación de éste para constituir anillos pirrólicos (1) con los cuales después se edificaría la molécula de melanina.

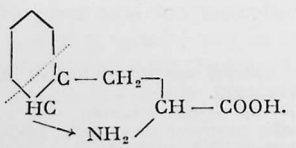
La misma formación de los núcleos indólicos (indol = benzopirrol), si se demostrase, no contradeciría esta doctrina, pues siempre podría suponerse una separación preliminar del pirrol y su condensación consecutiva.

A favor de la *teoría de* ANGELI existen los hechos siguientes:

En los tejidos vegetales (ANGELI) y en el extracto de los órganos animales (2) (solamente en los melanógenos, según RONDONI, y también en otros, según SACCARDI), existen unas substancias (enzimas ?) capaces de ennegrecer el pirrol (pirrol-oxidasas ?). Sin embargo, RONDONI ha encontrado (1912) que cualquier substancia coloide puede también, aunque quizás poco, acelerar el proceso de oxidación y de ennegrecimiento del pirrol, lo que quizás no es más que un ejemplo de catálisis por adsorción, desprovista de especificidad. Sin embargo, el mismo autor considera que los órganos melanógenos (piel, glándulas de la tinta de sepia) tienen poder oxidante para el pirrol, además de este factor genérico puramente coloidal.

En la orina de los animales inoculados con pirrol aparecen muchas de las *reacciones* llamadas del *melanógeno*, como son las observadas en

(1) Así, de la tirosina, adrenalina, etc., cuerpos con anillo bencénico fácilmente destruíble por la presencia de los hidroxilos unidos a ella, se debería formar el anillo pirrólico por rotura del anillo y unión de la cadena lateral con parte de aquél:



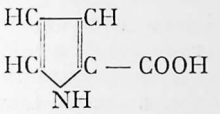
(2) RONDONI, *Sperimentale*, 1920, fasc. 4-6; 1921, fasc. 1-3; SACCARDI, *Gazz. chim. ital.*, año XLIX, fasc. 1.°, 1919; *Rendiconto R. Accad. dei Lincei.*, vol. XXVIII. serie 5.ª, 2.° semestre 1919.

la orina de los individuos con tumores melánicos; en el fondo son reacciones verdaderas y propias del pirrol, como la del nitrito sódico y ácido acético (oscurecimiento por formación de nitrosopirrol), la reacción de THORMAEHLEN (añadir un poco de solución recientemente preparada de nitroprusiato sódico y potasa cáustica en exceso: hermoso color violeta que, con ácido acético, pasa a azul; fugaz), la diazoreacción, etc.

Los cuerpos pirrólicos parecen también ser los causantes de la diazo-reacción de EHRLICH en la orina de los tifódicos, de los enfermos con formas febriles graves, etc. (véase también un poco más abajo).

Los extractos de tumores melánicos ennegrecen el pirrol, y D'AGATA vió como se ennegrecían los puntos por los cuales se inyectaba pirrol en la masa de un tumor melánico humano (1).

Las experiencias de formación de melaninas *in vivo* son particularmente interesantes: ANGELI, SACCARDI (2), RONDONI y QUATTRINI han demostrado que la inyección de pirrol, o mejor de ciertos derivados pirrólicos (entre los cuales parece muy adecuado el ácido a-carbopirrólico:



o ácido α-pirrolcarbónico, muy parecido por lo tanto, excepto por su menor riqueza en H, al ácido α-pirrolindincarbónico o prolina, constituyente de casi todos los cuerpos proteicos), en el tejido subcutáneo de conejos grises o leonados dan lugar a manchas oscuras o negras y a pigmentación intensa de los bulbos pilíferos y hasta en parte del tronco de los pelos.

Parece que en los conejos albinos no se consigue producir la pigmentación con los derivados pirrólicos, quizás porque faltan las propiedades enzimáticas necesarias para la oxidación y condensación del núcleo del pirrol (RONDONI).

Esta teoría italiana es la única que posee en su favor hechos experimentales seguros, aun cuando no bien aclarados. Añadamos que ANGELI no niega que en el edificio molecular de las melaninas puedan entrar otros núcleos además del pirrólico: él mismo encuentra que el pirrol oxidado con quinona da lugar a una intensa formación de negro y piensa que también los núcleos bencénicos pueden tomar parte en la formación de las melaninas. También GALLERANI (3), fundándose en investigaciones espectrofotométricas, concluye que el pirrol cons-

(1) *Boll. Soc. Eustach. di Camerino*, año XIX, n.° 4-6, 1921.
(2) *Id.*, año XIX, n.° 3, 1921.
(3) *Boll. Soc. Eustach. di Camerino*, 7 diciembre 1921.

tituye la parte esencial de las melaninas, pero que quizás también se encuentra en ellas el anillo bencénico.

El análisis directo de varias melaninas ha demostrado también a ANGELI y a SACCARDI la presencia constante en ellas del núcleo pirrólico, seguramente preformado : las melaninas, aun fundidas con potasa (en condiciones oxidantes) desprenden pirrol, hecho que también ha sido confirmado por RONDONI. Este autor (1), y especialmente ANGELI y PIERONI (2), han discutido esta cuestión con SALKOWSKI (3) a consecuencia de objeciones hechas por este investigador.

Así pues, según esta teoría, parece que el pirrol es el núcleo fundamental de las melaninas, así como de la hemoglobina y de la clorofila.

Parece que las melaninas tienen su primer origen en el núcleo celular. Esto confirma la importancia que poseen los procesos oxidantes en su formación, ya que el núcleo es un centro de oxidación. De todos modos parece cierto que se forman endocelularmente a expensas de derivados proteicos de cadena cerrada de átomos de carbono, y parece probable que el proceso de su formación consiste en fenómenos de condensación y oxidación debidos a factores enzimáticos complejos. Las investigaciones, no tan recientes, de F. DURHAM (4) permiten suponer la importancia que pueden tener en este proceso algunos catalizadores metálicos especiales : efectivamente, las sales ferrosas activan la formación de los productos de condensación coloreados, obtenidos de la tirosina por la acción de extractos de piel, y RONDONI dice haber visto que el sulfato ferroso activa también la oxidación y ennegrecimiento del pirrol por los extractos de piel.

Los lipoides no proporcionan, al parecer, elementos constitutivos a las melaninas, pero existen motivos para creer que la formación de las melaninas presupone algunos fenómenos de lipolisis, que sirven para establecer, mediante la disolución de membranas lipoidales protectivas o limitantes, el contacto entre el melanógeno (cuerpo cíclico: derivado pirrólico ?) y el fermento correspondiente.

---

(1) *Sperimentale*, 1921, fasc. 1-3.
(2) *Rend. R. Acad. dei Lincei*, vol. XXX, serie 5.ª, 1.er semestre 1921.
(3) *Virchow's Arch.*, vol. CCXXVII y CCXXVIII.
(4) *Proc. R. Soc. of Med.*, vol. XV, pág. 74, 1904.

CAPÍTULO VIII

Enzimas o fermentos

a) LOS FENÓMENOS DE CATÁLISIS. GENERALIDADES ACERCA DE LAS ENZIMAS, SUS PROPIEDADES FUNDAMENTALES Y SU NATURALEZA.

La palabra *fermento* ha sido empleada, y a veces aun lo es actualmente, para designar microorganismos capaces de desarrollar a expensas de los substratos orgánicos, generalmente hidratos de carbono, las acciones químicas complejas de tipo desintegrativo que se llaman *fermentaciones*. Ya hemos hablado de una fermentación sobre cuyo desarrollo tendremos que insistir al estudiar la acción de las células de los animales superiores sobre el azúcar ; tal es la fermentación alcohólica de la glucosa (Cap. V, *d*). En este sentido los fermentos son blastomicetos o bacterias y, según la fermentación que se produce, se habla de fermentos lácticos, butíricos, etc.

Pero los famosos estudios de BUCHNER sobre la posibilidad de producir la fermentación alcohólica sin la intervención de las células vivas de los blastomicetos, sólo por medio del jugo de estas células prensadas, han demostrado que la acción fermentativa no va necesariamente unida a la presencia de células vivas e íntegras, y además que puede desarrollarse en gran parte por obra de substancias en cierto modo separables de las células vivas, por principios químicos más o menos solubles y, como se comprende, *no vivos*. De aquí la distinción, que ya había sido adoptada desde los tiempos de PASTEUR, entre *fermentos organizados* y *fermentos solubles*, siendo los primeros, los microorganismos productores de las fermentaciones y los segundos, las substancias químicas segregadas por las células o contenidas en ellas, los instrumentos químicos, por lo tanto, de la fermentación, que por ello deja de ser un acto puramente vital.

Por lo demás, la Fisiología conoce desde hace mucho tiempo varios fermentos verdaderos, solubles en las substancias presentes en el tubo digestivo, que activan los fenómenos de escisión hidrolítica a que están sujetos los materiales alimenticios (proteínas, grasas e hidratos de carbono) : en ellos es bien clara la naturaleza química de sus princi-

pios activos, que pueden purificarse relativamente y hacerlos actuar *in vitro* lejos de toda intervención de las células vivientes.

Conocemos actualmente varios hechos singulares, que hacen creer que es menos claro de lo que hasta ahora se consideraba el límite entre las substancias químicas puras y simples dotadas de actividad biológica compleja y los substratos vivos y reproducibles, es decir, entre los simples fermentos y los materiales organizados y vivientes. Pero dejando estas consideraciones aparte, vamos a ocuparnos ahora de aquellas substancias químicamente mal conocidas y posiblemente heterogéneas, que quizás son sistemas coloidales complejos y no especies químicas puras y bien caracterizables, y que se comprenden en la denominación de *fermentos solubles* o *enzimas*, o simplemente *fermentos*.

Los fermentos o enzimas tienen una actividad particular que pertenece a los fenómenos de *catálisis*. La *catálisis* consiste en la modificación de la velocidad de una reacción química por efecto de substancias que no aparecen en las ecuaciones extremas de aquella reacción, es decir, que si escribimos sólo las ecuaciones inicial y terminal de la reacción de referencia, no vienen expresadas en ellas. La modificación de la velocidad de reacción es generalmente en sentido positivo : de aquí que la catálisis se haya definido también como el *aumento* de la velocidad de una reacción química por la presencia de substancias que no intervienen aparentemente en la reacción.

Observemos que el término de *catálisis* puede usarse también en ausencia de substancias especiales con función catalítica o *catalizadores*. En efecto, la velocidad de una reacción química puede ser influenciada por simples modificaciones físicas del medio en el cual se desarrolla y de las condiciones físicas de las substancias que reaccionan : por ejemplo, según que éstas estén disueltas en estado iónico molecular o coloidal puede variar mucho la velocidad de la reacción entre ellas. Es cosa sabida que la velocidad de una reacción química depende de varios factores, de los cuales uno, fundamental, es la masa activa de los cuerpos puestos en presencia, o sea su concentración en el medio de la reacción (entendiendo por concentración la relación entre la masa y el volumen) ; de ahí la conocida fórmula de la *ley de las masas de* GULDBERG y WAAGE, según la cual, se tiene : velocidad de la reacción = constante × concentraciones de los cuerpos que reaccionan.

Además, otro factor importante es la temperatura : la velocidad de una reacción química se duplica o triplica por cada aumento de 10° en la temperatura (regla de VAN T'HOFF), y esta gran influencia de la temperatura es característica de los procesos químicos en contraposición a los puramente físicos. En estos últimos (por ejemplo, la difusión de una solución, la expansión de los gases, etc.) encontramos que hay una relación simplemente lineal entre la temperatura y la velocidad del fenómeno, o sea, la medida de su desarrollo en la unidad de tiempo ; esto equivale a decir que el aumento de la velocidad del fenómeno es igual para todos los intervalos iguales de temperatura o,

en otros términos, que a cualquier temperatura hay una proporcionalidad entre la temperatura y la rapidez del desarrollo del proceso físico. Por el contrario, en las reacciones químicas la velocidad del proceso crece mucho más de lo que crece la temperatura : para un intervalo como el que media entre 30° y 40° vemos duplicarse o triplicarse la velocidad de la reacción química, y para intervalos más altos, entre 40° y 50° por ejemplo, encontramos otro aumento doble del precedente, por lo cual, para un aumento de temperatura de 30° a 50° la velocidad de reacción ha sido $2 \times 2 = 4$ veces, o $3 \times 3 = 9$ veces mayor. Por esto se dice en este caso que entre los dos factores temperatura y velocidad de reacción existe una relación *logarítmica* o *exponencial*. Así resulta evidente que la elevación de la temperatura facilita de modo notable las reacciones químicas porque en cierto modo atenúa las resistencias que se interponen para su desarrollo, quizás porque, aumentando la velocidad y amplitud de las vibraciones moleculares, facilita el contacto entre las moléculas de las substancias que reaccionan y, con ello, el recambio y la nueva agrupación de los átomos.

El concepto de *resistencia* a las reacciones químicas puede compararse con la resistencia al desarrollo de fenómenos físicos. Una corriente de agua encuentra resistencias en las tuberías ; la corriente eléctrica encuentra resistencia al pasar por un conductor. Para los fenómenos químicos existe esta relación :

$$\text{velocidad de reacción} = \frac{\text{fuerza química o potencial químico}}{\text{resistencia química,}}$$

ecuación que corresponde a la de la ley de OHM, para la energía eléctrica :

$$\text{intensidad de la corriente} = \frac{\text{fuerza electromotriz o potencial}}{\text{resistencia.}}$$

No sabemos la naturaleza de la resistencia química. Sin embargo, es cierto que es mínima en las reacciones entre iones, media en las reacciones entre moléculas, y máxima entre coloides, por lo cual las reacciones son rapidísimas y casi instantáneas entre substancias disueltas y ionizadas, más lentas entre cuerpos disueltos molecularmente, y todavía más lentas entre materias en estado coloidal.

He aquí, pues, como el estado físico químico de las substancias que reaccionan modifica la velocidad de la reacción ; si ésta aumenta, se habla de *catálisis por influencia del medio*, como cuando se usa como disolvente de los cuerpos que reaccionan un líquido que, por ejemplo, aumenta la disociación iónica de aquellos cuerpos, y por lo tanto, aumenta su velocidad de reacción.

Pero en los sistemas coloidales existe una forma de catálisis por influencia físico-química : las substancias que reaccionan pueden ser adsorbidas en la superficie de los ultramicrones y concentrarse allí de

manera considerable, de modo que las reacciones pueden ser considerablemente facilitadas : así, al concentrarse ciertas substancias difícilmente oxidables en la amplia superficie de un coloide muy disperso pueden, en cierto modo, quedar *expuestas* al oxígeno también abundantemente adsorbido por aquella superficie y ser oxidadas con facilidad y rapidez, en cuyo caso se habla de *catálisis por adsorción.*

Pero volvamos a la catálisis en sentido más estrictamente químico, a la debida a verdaderos *catalizadores* o cuerpos especiales añadidos al medio en que se desarrolla la reacción.

Es necesario observar que los catalizadores *jamás producen* reacciones químicas que no sean capaces de originarse por sí solas. No aportan ninguna energía nueva al sistema ; no hacen más que *acelerar* reacciones que ya se verifican espontáneamente, aunque con extrema lentitud. Todas las reacciones que vemos influenciadas catalíticamente son capaces de verificarse por sí solas, y realmente se verifican aunque en un tiempo mucho más largo cuando no interviene el catalizador. Se trata con frecuencia, aunque no siempre, de reacciones exotérmicas, aun cuando algunas reacciones endotérmicas (ciertas síntesis) puedan ser influenciadas catalíticamente. Según una comparación célebre, los catalizadores obran como el lubrificante de una máquina, el cual acelera el trabajo de ésta sin representar ninguna aportación de energía.

Sabemos que todas las reacciones químicas se desarrollan hasta un cierto *punto de equilibrio*, que depende de la naturaleza de los reactivos, de su masa activa o concentración, de la temperatura, etc. Imaginemos que tomamos acetato de etilo (un éster : $CH_3 \cdot COO \cdot C_2H_5$) y agua en proporciones equimoleculares ; dejándolos en contacto durante varias semanas encontraremos que el éster ha sido hidrolizado y que, por lo tanto, han aparecido determinadas cantidades de ácido acético y de alcohol etílico, que al principio crecen rápidamente y luego cada vez con mayor lentitud hasta alcanzar un cierto punto, hasta que existe un tercio de molécula-gramo de ácido y de alcohol y dos tercios de molécula-gramo de éster y agua ; por mucho que sea el tiempo que se deje transcurrir después, no se conseguirá una mayor escisión del éster con formación de ácido y de alcohol. Si, por el contrario; en vez de partir del éster y del agua, se parte de una mezcla de ácido acético y alcohol, se observa el proceso inverso : rápidamente al principio y luego con más lentitud, se verifica la combinación del ácido acético y del alcohol etílico con formación de éster y agua, hasta un cierto punto en que las proporciones de los cuatro componentes son las mismas a que se ha llegado en el primer caso. He aquí un ejemplo de una reacción capaz de transcurrir en los dos sentidos, que puede expresarse por la ecuación :

$$CH_3 \cdot COOH + C_2H_5 \cdot OH \rightleftarrows CH_3 \cdot COO \cdot C_2H_5 + H_2O.$$

Podemos imaginarnos que cuando están presentes los cuatro componentes se verifican simultáneamente las dos reacciones : la de derecha a izquierda (escisión hidrolítica) y la de izquierda a derecha (síntesis), y que la velocidad de cada una será, por la ley de las *masas*, proporcional a las masas activas o concentraciones (masa por unidad de volumen) de los cuerpos que en ella intervengan. La reacción de derecha a izquierda se verificará, pues, con velocidad proporcional a las concentraciones del éster y del agua puestos en presencia :

$$v' = \text{constante} \times \text{conc. éster} \times \text{conc. } H_2O$$

o, más sencillamente, llamando K′ a la constante :

$$v' = K' \cdot [\text{éster}] \cdot [H_2O].$$

Esta velocidad irá disminuyendo siempre, porque las concentraciones de los reactivos se reducen a medida que se combinan mayores cantidades de éstos.

La reacción de izquierda a derecha se verificará con velocidad v'' proporcional a las concentraciones del ácido y del alcohol :

$$v'' = K'' \cdot [\text{ácido}] \cdot [\text{alcohol}].$$

También esta velocidad decrecerá continuamente por disminuir las concentraciones del alcohol y del ácido a medida que se combinan para formar éster y agua.

Se llegará siempre al punto de equilibrio, situado, por decirlo así, a una cierta distancia de los dos extremos de la reacción, cuando $v' = v''$, o sea, cuando las dos reacciones opuestas se verifiquen con igual velocidad. Entonces, al mismo tiempo que del alcohol y del ácido se forman éster y agua, cantidades de éster y agua iguales a las producidas, se combinarán para regenerar ácido y alcohol. Si $v = v'$, tendremos :

$$K' \cdot [\text{éster}] \cdot H_2O] = K'' \cdot [\text{ácido}] \cdot [\text{alcohol}]$$

o sea, que :

$$\frac{K'}{K''} = \frac{[\text{ácido}] \cdot [\text{alcohol}]}{\text{éster} \cdot H_2O}$$

y, si representamos la relación entre dos constantes por una nueva constante K, tendremos :

$$\frac{\text{ácido} \cdot \text{alcohol}]}{[\text{éster} \cdot [H_2O]} = K.$$

Esta constante es la llamada *constante de equilibrio*, característica para cada reacción y temperatura, que indica cuál es el punto en que la reacción se detiene sea cual fuere el sentido en que se la haga desenvolver.

Se llaman *reacciones reversibles* aquellas que, como la que acabamos de citar, se verifican con facilidad en los dos sentidos de manera claramente demostrable, porque su punto de equilibrio está, por decirlo así, a la mitad de su recorrido, o por lo menos suficientemente separado de uno de los extremos para que siempre permita demostrar que se verifican las dos reacciones opuestas, de tal modo, que se puede tener siempre la comprobación analítica de la presencia constante de todos los productos iniciales y finales. Así, en la reacción de esterificación, sea cual fuere la cantidad que tomemos de los cuatro cuerpos que en ella intervienen (alcohol, ácido, éster y agua), siempre encontraremos la presencia evidente de los cuatro ; nunca podremos obtener solamente agua y éster. Pero en el fondo *todas* las reacciones químicas son reversibles, y las que no lo son aparentemente lo deben al hecho de que el punto de equilibrio está tan próximo a uno de los extremos que no hay posibilidad de demostrar que el fenómeno también se verifica en sentido opuesto. Consideremos la reacción entre el oxígeno y el hidrógeno para formar agua : una vez comenzada, se verifica rápidamente hasta el punto de equilibrio, que está muy próximo al término de la combinación completa y es prácticamente identificable con ésta : $2H_2 + O_2 \rightarrow 2H_2O$. La reacción opuesta $2H_2O \rightarrow 2H_2 + O_2$ se verifica, sin embargo, pero con una velocidad tan sumamente menor que en la práctica no quedan indicios de gases libres cuando la gran masa de ellos se ha combinado.

Gran número de las reacciones que se producen en el organismo, son reacciones reversibles, que no llegan, por lo tanto, hasta el final sino que están fuertemente influenciadas por la ley de las masas.

Si volvemos al ejemplo de la reacción de esterificación y nos fijamos en la última fórmula, podremos comprender que si en la mezcla se aumenta la concentración del ácido y del alcohol, deberá aumentar también la del éster y del agua, o sea que deberá formarse nuevamente éster y agua para que permanezca constante el valor de K. En cambio, si sólo aumentamos el agua, diluyendo sencillamente la mezcla, veremos que — para que la relación se mantenga constante — se reducirá la concentración del éster, o bien crecerán las del ácido y del alcohol o se simultanearán estos dos fenómenos : en realidad sucede esto último, o sea que disminuye la concentración del éster y aumentan las del ácido y del alcohol, o sea que el éster se descompone en alcohol y ácido. *La simple dilución favorece, pues, la reacción en el sentido de la hidrólisis :* esto se verifica frecuentemente en el organismo, en el cual la dilución facilita reacciones hidrolíticas mucho más complejas. Al contrario, la concentración de los productos originarios — en nuestro ejemplo, el ácido y el alcohol — la escasez de agua, el consumo del producto de la reacción a medida que se forma (por ejemplo, por ser empleado en otras reacciones) o su apartamiento del campo de la reacción, favorecen ésta en el sentido de la síntesis. Así vemos que las síntesis orgánicas se verifican en las células, en espacios pequeños, en un medio denso y viscoso como el protoplasma, pero nunca en los líquidos circulantes, plasma sanguíneo o linfático.

Después de este resumen de la cinética de las reacciones orgánicas, podremos comprender mejor los fenómenos de catálisis. La reacción entre el oxígeno y el hidrógeno encuentra una gran resistencia para su desarrollo, y los dos gases pueden permanecer mucho tiempo mezclados sin reaccionar y formar agua ; basta, sin embargo, ponerlos en presencia de platino finamente dividido para que la reacción se verifique rápidamente y hasta el fin, es decir, hasta el punto de equilibrio que está muy próximo a la combinación completa del H_2 con el O_2. La masa de metal en estado de subdivisión ha obrado catalíticamente y al final de la reacción se encuentra intacta y pronta para catalizar nuevas reacciones.

Si a la mezcla de agua y éster etílico añadimos un ácido, por ejemplo H_2SO_4, o sea, si aumentamos la concentración en iones H, éstos obran como catalizadores y, no en varios días sino en pocas horas, desaparecen las cantidades primitivas de éster y agua y aparecen las de alcohol y ácido correspondientes al estado de equilibrio. Pero, nótese bien que, a pesar del catalizador, no se rebasa el punto de equilibrio : no se forma más ácido y alcohol del que se formaría sin el catalizador, ni se descompone más éster. El catalizador hace llegar más rápidamente al punto de equilibrio, sin modificar éste en lo más mínimo. Adoptando la comparación de Bayliss (1), el catalizador obra como una orden que hace acelerar el paso a dos personas que han salido al mismo tiempo de sus casas respectivas para encontrarse en un punto cualquiera situado entre ambas casas : el catalizador adelanta la hora del encuentro porque apresura el paso de las dos personas en la misma medida, pero el punto de encuentro permanece el mismo. Si se encontrasen en un sitio más próximo a la casa del primero, sería señal de que sólo ha sido acelerado el paso del segundo, o que éste ha apresurado su marcha todavía más que el otro. Por lo tanto, los catalizadores, ya que la observación directa demuestra que no modifican el punto de equilibrio, aceleran en las reacciones reversibles las dos direcciones de la reacción, por ejemplo, la desintegrativa y la sintética.

De la naturaleza del catalizador y de varias otras circunstancias (temperatura, etc.), depende, pues, la intensidad con que la reacción es acelerada (en ambos sentidos) por cada catalizador, o sea, *cuando* se alcanza el punto de equilibrio. En cambio, con catalizador o sin él, el punto *donde* la reacción permanece en equilibrio depende esencialmente de las masas activas de las substancias que reaccionan. La adición de iones H a una mezcla de mucha agua y éster etílico, acelera la hidrólisis ; la adición de iones H a una mezcla de ácido acético y alcohol etílico, acelera la síntesis del éster ; pero las concentraciones finales de los cuatro cuerpos están exactamente en la misma relación

(1) *Principles of gener. Physiology*, Longmans 1920.

en que se encontrarían al cabo de un tiempo mayor si no hubiésemos añadido hidrogeniones.

Ahora bien, las *enzimas son catalizadores orgánicos*, que fundamentalmente obran como los *catalizadores inorgánicos* citados y muchos otros (los metales en estado coloidal son unos de los mejor estudiados), de los que se encuentran ejemplos en los libros de Química. Las *enzimas* o *fermentos* se distinguen de los demás catalizadores por su origen celular y su naturaleza coloidal. Pero, existiendo otros catalizadores coloidales en el mundo inorgánico, como los metales coloidales que catalizan enérgicamente, por ejemplo la descomposición del agua oxigenada en agua y oxígeno — la naturaleza coloidal no es un carácter diferencial absoluto.

De todas maneras, los fermentos tienen propiedades que dependen de su naturaleza coloidal : una de éstas es la sensibilidad a los agentes térmicos o *termolabilidad*, por lo cual a más de 50°-70° son inactivados o destruídos ; sólo muy pocos soportan la ebullición por brevísimo tiempo. Los ácidos y los álcalis también los inactivan si sobrepasan una cierta concentración ; además la acción de los fermentos está unida a una determinada concentración en $H^{\cdot}$ y OH' del medio, es decir que existe una reacción óptima para su actividad. El alcohol, el cloroformo y las sales de los metales pesados perjudican más o menos a los fermentos. La misma conservación prolongada, especialmente cuando están disueltos, debilita y anula más tarde su acción. Vemos, pues, que todos aquellos agentes que modifican el estado de las soluciones coloidales, alterando, por lo general, su grado de dispersión, modifican también la actividad de los fermentos, y podemos admitir que la función enzimática está en relación con un cierto desarrollo de la *superficie activa* en la solución del mismo fermento, como pronto veremos.

El *substrato* de una enzima es el material sobre el cual desarrolla su acción (hidrolítica, oxidante, sintética, etc.). Una nomenclatura moderna de los fermentos es la que consiste en añadir la desinencia *asa* al nombre del substrato sobre el cual actúan : así, una *proteasa* es un fermento que obra sobre las proteínas ; una *esterasa*, uno que ataca los ésteres, etc. Se habla también de fermentos *proteolíticos*, *amilolíticos*, etc., según que ataquen las proteínas, los almidones, etc. Algunos prefieren usar la denominación de fermentos *proteoclásticos*, *amiloclásticos*, etc.

Se dice que las enzimas son *específicas* porque cada una de ellas tiene una determinada electividad o preferencia de acción. Esto es cierto, sobre todo en un sentido muy amplio : las enzimas conocidas como activas para las proteínas no obran sobre los hidratos de carbono ; las que atacan a éstos no obran sobre las grasas, etc., lo cual equivale a decir que existen clases diversas de enzimas correspondientes a la gran clasificación de los cuerpos orgánicos. Pero existe una especificidad mucho más delicada : entre las enzimas proteolíticas, la pepsina ataca a las proteínas pero no a los polipéptidos : la tripsina

ataca algunos polipéptidos y a otros no, y basta que en un polipéptido atacable se substituya un aminoácido por su antípoda óptico para que el nuevo polipéptido no sea atacable ; entre las enzimas que atacan a los glucósidos se ve que la maltasa ataca los α-glucósidos, pero no a los β-glucósidos, mientras que la emulsina ataca a los β-glucósidos y no a los α-glucósidos. He aquí una pequeña diferencia *estérica* o de configuración molecular a la que ciertas enzimas son perfectamente sensibles. Hablando con toda propiedad, y de acuerdo con Bayliss (1), se podrían hacer algunas reservas acerca del principio de la especificidad de las enzimas : quizá no exista, ni aun en los casos más salientes, una especificidad en el sentido de que un fermento obre perfectamente sobre un substrato y no actúe en absoluto sobre otro un poco distinto ; podría suceder que sólo se tratase de diferencias en la intensidad de acción, expresadas sobre todo por la diversa velocidad de desarrollo del proceso enzimático. Así, podría suponerse que la maltasa atacase también a los β-glucósidos, pero débilmente, de manera que la reacción no fuese apreciable por los métodos corrientes y en el lapso de tiempo en que se acostumbra a observar. Existen datos favorables por lo menos a una limitación del concepto de especificidad, que había sugerido a E. Fischer la célebre comparación de la llave y la cerradura : cada fermento obra sobre un substrato dado como una llave abre sólo una determinada cerradura. Si la opinión de Bayliss fuese cierta y la especificidad aparente no fuese más que el efecto de la distinta velocidad en la acción enzimática, aquella comparación ya no serviría : la llave podrá abrir o no, pero jamás abrirá la que no encaje en la cerradura, por mucho tiempo que se la tenga metida en ésta.

Sin embargo, Bayliss no niega los casos más amplios de especificidad : fermentos proteolíticos, lipolíticos, oxidantes, etc., y reconoce la importancia que tiene en muchos casos la configuración del substrato, en relación quizás con la configuración de la molécula del fermento. En efecto, parece que éste tiene propiedades ópticas semejantes a las del substrato, de donde se deduce su disimetría molecular.

Poca cosa sabemos todavía sobre el modo de obrar de los fermentos, y también es muy oscuro el problema de su composición. En otro tiempo se aceptó como cierta la naturaleza proteica de los fermentos, pero después se ha logrado preparar fermentos que no daban las reacciones características de los albuminoides, por lo que parece que son materiales orgánicos, forzosamente mezclados con las proteínas, pero que no tienen verdadera y constante naturaleza proteica. Se ha sostenido que la pepsina es un núcleoproteido y que las catalasas de los órganos son peptonas, y a muchos fermentos proteolíticos se les ha atribuído naturaleza de polipéptidos. Herzfeld y Klinger incluyen en su teoría (Cap. VII, *d*) el concepto de que los fermentos son productos bien solubles procedentes de la desintegración de albuminoides, que se absorben sobre las moléculas proteicas obrando así de media-

(1) *The nature of enzyme action*, Longmans, 1919.

dores de solubilidad, atrayendo agua e iniciando los procesos hidrolíticos. WILLSTAETTER (1) se ha ocupado recientemente de esta cuestión y niega, por ejemplo, que la invertasa sea de naturaleza coloidal y proteica, pues sus disoluciones purificadas no presentan el fenómeno de TYNDALL, aunque contienen N. Ciertas peroxidasas serían glucósidos que también contendrían N.

Son también curiosas las observaciones recientes de EHRENBERG y LOEWENTHAL (2) : dejando abandonada a sí misma una solución de caseína al 1 % (en solución amortiguadora de fosfatos) se conserva intacta, pero si esta solución se filtra por una membrana de DE HAËN, sufre muy pronto un proceso autolítico (es decir, una acción proteolítica) y el filtrado se vuelve proteolítico para otra porción de caseína o de fibrina que se añada, como si la filtración hubiese originado, en cierto modo, un fermento. Además, una mezcla de tripsina y una substancia proteica conservada durante cierto tiempo, se vuelve más activa respecto a esta substancia que para cualquier otra, como si la tripsina se hubiese adaptado y especializado para la proteína con que al principio se había puesto en contacto.

Estos hechos, todavía oscuros, pueden, sin embargo, preparar el campo para nuevas y vastas investigaciones ; de todos modos nos aproximamos cada vez más a la idea de que los fermentos no son substancias bien definidas, sino sistemas complejos capaces de realizar intervenciones complicadas con el substrato, que están en relación con determinadas condiciones *físicas* de la célula o del líquido orgánico que los contiene.

En realidad puede suceder que, igual como los catalizadores inorgánicos, los fermentos sean de naturaleza bastante variada y que algunos, o quizás muchos, consten de una substancia relativamente sencilla, del tipo de tantos catalizadores inorgánicos (un ácido, una sal de Fe o de Ca o de Mn) en la que resida la verdadera acción catalítica, la cual sea enormemente aumentada y puesta de manifiesto por otra substancia, inactiva por sí misma y de naturaleza coloidal, como parece deducirse de los experimentos de TRILLAT (3) y conforme con la clara exposición de BERTRAND. Se ha conseguido reproducir experimentalmente algunos *modelos* de fermentos siguiendo este esquema ; podemos citar como ejemplo una *lacasa* obtenida mediante hidróxido de manganeso (el verdadero agente activo, inorgánico) y goma arábiga, coloide que aumenta la acción del primero (4).

Los fermentos actúan por la superficie, pues se ha visto que algunos (emulsina, lipasa, ureasa, tripsina) obran aun en medios alcohólicos, en los cuales son insolubles.

(1) *Versamml. d. Naturforscher u. Aerzte*, Leipzig, 1922.
(2) *Klin. Woch.*, 1923, n.° 2 y 15 ; *Bioch. Zeitschr.*, vol. CXXVIII.
(3) *Compt. rend. Acad. d. Sciences*, 1903-1904.
(4) Según TRILLAT, el sistema : manganeso, una base y ovoalbúmina, constituye una verdadera oxidasa artificial. El Mn ha sido usado, en estado coloidal, como agente terapéutico de propiedades oxidantes y por lo tanto antitóxico, antiinfectivo y resolvente (véanse los trabajos de CORONEDI y sus discípulos en *Bioch. e Ter. sper.*, año VII, fasc. 1-4, 1920.

Debemos, pues, suponer que los fermentos son materias cuya superficie está enormemente desarrollada y que su acción se desenvuelve según el tipo de la *catálisis en medio heterogéneo* y (como dice BAYLISS) en tres períodos : primero el substrato debe *difundirse* por el fermento, si éste está disuelto o, en caso contrario, el fermento ponerse en íntimo y uniforme contacto con todo el substrato ; después el substrato debe *adsorberse* en la superficie de los agregados coloidales de la enzima y, en tercer término, se realiza la *acción propiamente química* de la enzima sobre el substrato adsorbido, la cual depende quizás de la configuración molecular recíproca de ambas substancias. No es inverosímil que entre la enzima y el substrato se formen *compuestos intermedios lábiles*, destinados a desintegrarse luego para desprender la enzima, dejándola intacta para que forme nuevas combinaciones lábiles con nuevas masas de substrato. Pero esta producción de compuestos intermediarios admisible en muchos casos (también muchos catalizadores inorgánicos obran de esta manera ; tal sucede con ciertos catalizadores de oxidación, las sales ferrosas, por ejemplo, que actúan como *transportadores de oxígeno*, oxidándose hasta sales férricas y reduciéndose luego para ceder el oxígeno a la substancia que se debe oxidar) no siempre es demostrable ni necesaria : la concentración de un material (substrato) sobre superficies coloidales extensísimas puede *bastar* por sí sola para desarrollar con enorme rapidez fenómenos que sin ella se desenvolverían lentamente. En resumen, puede suceder que muchísimas acciones enzimáticas pertenezcan al campo de la *catálisis por adsorción* en el sentido más amplio. Esto no significa negar el valor que posee la naturaleza química del agente enzimático, pero se debe reconocer la importancia que las condiciones físicas (desarrollo de superficie) tienen para su actividad. Así, en el caso de la *zimasa* de BUCHNER vemos que la ruptura mecánica de las células conserva la actividad enzimática, unida evidentemente a sistemas coloidales complejos que la presión altera poco ; mientras que pequeñas modificaciones del estado coloidal (del grado de imbibición y de dispersión), tentativas de extracción con disolventes, etc., hacen desaparecer muchas de las diversas aptitudes fermentativas de aquel material (1). Finalmente, si tuviésemos en cuenta las investigaciones recientes de NORTHROP, deberíamos poner en duda, para algunos fermentos, la naturaleza puramente catalítica del proceso enzimático ; los estudios de NORTHROP (2) demostrarían que la digestión pépsica es una verdadera reacción química en la cual tomarían parte la proteína y la pepsina, estableciéndose un equilibrio complejo entre la proteína ionizada y la no ionizada, la pepsina unida y la pepsina libre :

(1) FODOR, *Das Fermentproblem*, Steinkopf, 1922.
(2) *Science*, 22 abril 1921.

no sería, pues, una reacción catalítica en el sentido clásico, que sólo atribuye al fermento una acción de presencia.

b) Leyes de la acción enzimática.

En la práctica muchas de las reacciones catalizadas por las enzimas no se desarrollarían de modo analíticamente apreciable sin la acción de éstas, por lo cual se dice — aunque impropiamente — que la enzima produce esta o aquella reacción. En la mayoría de casos se trata, debido también a que la reacción se realiza en un medio fuertemente acuoso, de reacciones desintegrativas, por lo cual se reconoce la presencia de la enzima por la desaparición de la substancia primitiva y por la aparición de los productos de su desintegración.

Pueden adoptarse también criterios cuantitativos bastante exactos, pero las leyes generales que de ellos se han querido derivar son frecuentemente de aplicación imperfecta, dada la enorme complejidad de los fenómenos. En efecto, frecuentemente no nos encontramos ante una sola enzima, sino con un sistema de enzimas cuyas diversas acciones están encadenadas : recuérdese la *zimasa* de Buchner, que produce la fermentación alcohólica y la multiplicidad de reacciones parciales que conducen al resultado final para comprender cómo ciertamente la zimasa es un compuesto de enzimas sencillas, cada una de las cuales acelera una determinada reacción de las muchas que integran la fermentación de la glucosa.

De todos modos, la medida de la aceleración que cada fermento imprime a la velocidad de la reacción realizada, o sea, en otros términos, la medida de la acción enzimática, depende de los factores fundamentales siguientes :

1.° *Cantidad del fermento.* La acción fermentativa es proporcional a la cantidad de enzima, pero guardando una relación más o menos complicada. En general, y con referencia a sus concentraciones respectivas, son más activas las pequeñas cantidades de enzima que las mayores ; es decir, que si la cantidad m de enzima produce una determinada transformación del substrato en un tiempo t, la cantidad $2\,m$ de enzima no la producirá en un tiempo $\frac{t}{2}$, sino en un lapso superior a $\frac{t}{2}$.

2.° *Cantidad del substrato.* Cuantas más moléculas del substrato existan en la unidad de volumen, tantas más podrán ser atacadas, por lo cual la acción enzimática está hasta cierto punto en relación con la concentración del substrato que debe ser atacado. Puede decirse que la cantidad de substrato que se transforma por unidad de tiempo es proporcional a la cantidad de substrato aun intacto que va presentándose sucesivamente para ser transformado. La cantidad de material transformado irá decreciendo en tiempos sucesivos, al principio en progresión rápida y después cada vez más lenta, o sea, hablando con mayor exactitud, que en tiempos iguales y sucesivos se transformará siempre una fracción constante de la cantidad preexistente *(ley* llamada también *de las reacciones monomoleculares).*

3.° *La temperatura.* La elevación de la temperatura favorece la acción enzimática, pero sólo hasta cierto punto (temperatura óptima) pasado el cual la termolabilidad del fermento determina la destrucción de éste.

4.° *La reacción del medio.* La concentración de iones H tiene importancia decisiva. Por encima y por debajo de cierta concentración óptima todos los fermentos son menos activos y hasta son inactivados por las concentraciones extremas (inactivación por los ácidos y álcalis).

5.° *La presencia de sales y de varias substancias orgánicas* que pueden influenciar en sentido favorable o desfavorable la acción enzimática. En general una proporción moderada de sales neutras, aproximadamente igual a la contenida en los líquidos orgánicos, es favorable. Naturalmente, dadas las estrechas *relaciones entre el estado coloidal y la acción enzimática,* se comprende que los electrólitos puedan modificar profundamente la acción de los fermentos, pues ya sabemos la influencia que poseen los electrólitos sobre los coloides en general y especialmente sobre las proteínas. La acción modificadora de varias substancias puede ser debida a modificaciones introducidas en el substrato y no en el fermento : así, el formaldehido inhibe la digestión de la gelatina por obra de la pepsina porque se une con el substrato proteico y lo hace inatacable.

En general todo lo que aumenta la dispersión del substrato o del material que representa el fermento facilita la acción enzimática ya que aumenta las probabilidades de contactos y acciones recíprocas. Si examinamos el proceso de la fermentación en diversos tiempos consecutivos, puede suceder que presente una marcha *ondulante ;* Groll (1) ha demostrado en la ureasa, la lipasa y la ptialina, que estos fermentos van disminuyendo progresivamente en actividad, con la conservación, pero siguiendo una curva ondulada (desarrollo de reacciones rítmicas como las resumidas en la página 127).

6.° Los mismos productos de la acción enzimática pueden modificar el ulterior desarrollo de ésta. Muchas veces los productos del proceso fermentativo tienen acción inhibidora debido a varias razones : pueden combinarse con el fermento, privándolo, en parte, de su acción, y también pueden modificar la reacción del medio, si tienen un carácter marcadamente ácido o alcalino. Otras veces se forman substancias que favorecen la acción enzimática : entramos entonces en el campo de los fenómenos de autocatálisis. En estos casos se ve que la transformación operada por el fermento procede al principio con lentitud ; sigue después un período de rápido acrecentamiento de la transformación y luego un retardo progresivo ; el período de

(1) *Kolloidzeitschr.*, vol. XXI, 1917.

aceleración de la reacción revela los fenómenos de autocatálisis porque corresponde a la aparición de los productos de la reacción aceleradores de la reacción misma. Los fenómenos de autocatálisis tienen gran interés biológico, aun cuando se acude a ellos con demasiada frecuencia para explicar hechos complejos y oscuros.

c) Cofermentos y antifermentos.

Ya hemos dicho que muchas substancias obran sobre los fermentos, modificando su estado coloidal o de otro modo. Estas influencias son generales y extendidas a todos o a muchos fermentos ; así sucede con la acción de la temperatura, de los electrólitos, etc. Existen, sin embargo, los *activadores* o *paralizadores específicos*, es decir, substancias que obran de manera específica sobre un fermento dado, acelerando, retardando o hasta inhibiendo su acción.

Cuando los activadores específicos son tales que sólo su presencia permite la acción enzimática, o sea cuando las relaciones de especificidad entre el fermento y el activador son tan íntimas y ambos cuerpos están engranados uno en otro de forma que sin la presencia simultánea de los dos no existe acción enzimática, se habla de *cofermentos*. A veces el cofermento es un producto de células distintas de las que fabrican el fermento : esto se expresa generalmente diciendo que ciertas células producen un *profermento* o *zimógeno*, esto es, un estado inactivo del fermento, que es *activado* por el producto de otras células ; el agente activador se llama entonces *quinasa*. El ejemplo clásico de estos procesos lo encontramos en la secreción del páncreas y en el jugo intestinal. El páncreas segrega el tripsinógeno o profermento de la tripsina que por sí sólo es inactivo para las proteínas, cosa que puede comprobarse experimentalmente, pues el jugo pancreático obtenido por una fístula del conducto de Wirsung (para que no se mezcle con el jugo intestinal) no digiere ciertas proteínas ; en cambio las células secretoras de las glándulas entéricas producen la *enteroquinasa* que es el *activador específico* del tripsinógeno. Podría decirse que tripsinógeno + enteroquinasa = tripsina completa. Mezclando, pues, jugo intestinal y secreción pancreática pura, se obtiene la tripsina completa, con su acción proteolítica característica.

Mejor conocido es el mecanismo de un cofermento de la fermentación alcohólica. Si se dializa la levadura prensada (zimasa) o se filtra a través de un ultrafiltro que retenga los coloides, en el dializado o en el filtrado aparece un agente, que parece ser de naturaleza no coloidal y resistente a la ebullición, y que es necesario para la fermentación : en efecto la levadura es inactiva después de la diálisis o filtración, como también es inactivo el dializado o el filtrado por sí sólo, pero reuniendo el material que ha quedado en el dializador o en el filtro con el dializado o el filtrado, se vuelve a tener el fermento completo. En el dializado o en el filtrado hay, por lo tanto, un cofermento no coloide que se supuso que era un fosfato inorgánico, pero que según los datos más recientes de Neuberg parece ser un cuerpo de tipo aldehídico o de α-cetoácido (los α-cetoácidos pasan fácilmente a aldehidos por pérdida de CO_2 ; en efecto $R — CO — COOH = CO_2 + R{\cdot}COH$) capaz, como todos los aldehidos, de fijar *hidrógeno de fermentación* o, como se dice, de actuar de receptor de hidrógeno y, por consiguiente, de favorecer mediante un proceso hidroclástico (de escisión del agua) la liberación del oxígeno activo necesario para oxidar el metilglioxal hasta ácido pirúvico (Cap. V, *d*). La presencia del fosfato monopotásico parece ser también necesaria. Es interesante para nosotros saber que en la sangre y en los órganos de los animales superiores se encuentra también este cofermento activador de la fermentación alcohólica, o sea que la sangre o los extractos de órganos pueden suplir al dializado de referencia para reactivar la acción fermentativa de la zimasa dializada o ultrafiltrada.

Parece que el cloruro de cal es el cofermento necesario de la tirosinasa ; he aquí una simple sal que es necesaria para la acción enzimática y que posee toda la importancia de un cofermento.

Se encuentran también paralizadores tan específicos que se han llamado *antifermentos*. Debería discutirse aquí la cuestión de si el organismo forma, ante todo, anticuerpos frente a los fermentos introducidos como antígenos por vía parenteral : si se pone en duda la naturaleza de los fermentos, debería ponerse igualmente en duda la posibilidad de que tengan una función propia y verdaderamente antigénica. Se ha hablado de antiemulsina, antilabfermento, antitripsina y antipepsina de origen inmunitario ; pero no sabemos con seguridad si en los casos descritos se trata de antifermentos verdaderos o de anticuerpos de las proteínas que acompañan como impurezas al fermento : Bayliss se inclina hacia esta última opinión.

Es un hecho que muchos substratos coloidales adsorben el fermento y actúan como antifermentos : el carbón animal obra en realidad como una especie de antifermento de la tripsina, pues, añadido a ésta, inhibe la digestión de una proteína, es decir, del substrato atacable. El suero de los animales tratados con fermento por vía parenteral, podría obrar solamente como los sueros normales adsorbiendo el fermento con sus proteínas o también modificando por su alto contenido proteico la reacción del medio, *simulando* así la presencia de antifermentos verdaderos y propios. La cuestión no está bien resuelta : se necesitan nuevas investigaciones inspiradas en los conocimientos actuales de la Química física y en las que se tengan estrictamente en cuenta las relaciones cuantitativas, especialmente al comparar los resultados logrados con los que se obtengan con sueros normales.

Citemos solamente la llamada antitripsina o *poder antitrípsico* del suero, que aumenta en los tumores malignos, en las enfermedades infecciosas (pulmonía), etc. Algunos consideran que es debido a la formación de autoanticuerpos respecto a los fermentos trípsicos normales por ejemplo, al reabsorbido del páncreas, al de los leucocitos destruídos, al de las células neoplásicas, etc. ; otros lo suponen debido a

la presencia de lipoides y ácidos grasos no saturados del suero, y finalmente, algunos lo atribuyen a las mismas proteínas del suero, que son poco atacables por los fermentos proteolíticos y que podrían explicar una acción protectiva de las mismas *in vitro* y quizás también *in vivo*. De antiguas investigaciones de RONDONI (1), parece deducirse que el poder antitrípsico del suero está más ligado a las seroalbúminas que a las seroglobulinas y es destruído por varios reactivos (por ejemplo, los jabones), es decir, por substancias de gran actividad superficial, que modifican el estado físico de los soles proteicos del suero o las relaciones entre proteínas y lipoides.

d) ACCIÓN SINTÉTICA DE LOS FERMENTOS. CARBOLIGASA DE NEUBERG.

Los fermentos, según un postulado de la teoría de la catálisis, deben actuar también produciendo síntesis. Se ha logrado realmente la demostración del proceso sintético en algunos casos : la lipasa forma grasas neutras a partir de ácidos grasos y glicerina (2), la maltasa construye un disacárido a base de glucosa, y quizás también se ha conseguido la reconstrucción de substancias similares a las proteínas *(plasteínas)* copulando los derivados de la desintegración proteica.

Durante bastante tiempo se consideró que de todas las reacciones catalizadas por los fermentos, sólo las hidrolíticas eran reversibles y capaces, por lo tanto, de demostrar en condiciones favorables la acción sintetizante de los fermentos ; se creía, pues, que sólo las hidrolasas o enzimas que aceleraban las reacciones hidrolíticas eran capaces de catalizar también las síntesis. Se suponía también que las zimasas o fermentos catalizantes de las reacciones en las cuales hay ruptura de las cadenas de carbono, no actuaban jamás en el sentido de la síntesis ; no se admitía entonces la existencia de fermentos capaces de soldar los átomos de carbono formando una cadena más larga. Pero NEUBERG ha encontrado, tanto en las levaduras vivas como en las prensadas (zimasas), un fermento capaz de producir la condensación del aldehido acético y del aldehido benzoico y formar un cetoalcohol o alcohol cetónico :

$$CH_3 \cdot CHO + C_6H_5 \cdot CHO = CH_3 \cdot CO - COOH - C_6H_5;$$

y también la condensación del aldehido acético consigo mismo, dando origen al metilacetilcarbinol :

$$CH_3 \cdot CHO + CH_3 \cdot CHO = CH_3 \cdot CO - CHOH - CH_3.$$

NEUBERG ha llamado a este fermento *carboligasa* y lo considera como el primero y, hasta ahora, como el único ejemplo de un fermento

(1) *Sperimentale*, 1910, fasc. 1.°.
(2) Para la acción sintética de la lipasa pancreática, v. C. FOÁ, *Giorn. R. Accad. Med.*, Turín, 21 mayo 1915.

capaz de operar la unión de dos átomos de carbono, de formar, por lo tanto, una cadena larga a partir de otras cadenas atómicas cortas.

En el organismo animal deben verificarse también reacciones semejantes cuando de los hidratos de carbono se forman las cadenas mucho más largas de los ácidos grasos, y deben existir fermentos que catalizan estas reacciones sintéticas *(sinteasas)*.

e) FORMACIÓN DE LOS FERMENTOS EN LAS CÉLULAS.

La formación de los fermentos en las células, depende de varios factores, dos de los cuales son esenciales : la *reacción*, que tiene importancia no sólo para la actividad del fermento sino también para su génesis, y la naturaleza y concentración del *substrato*. La presencia de éste es como el estímulo excitante de la célula para la producción de la enzima de acción electiva o prevalente sobre aquel substrato, y por otra parte los productos de la acción enzimática sobre el substrato pueden tener importancia para la formación consecutiva del fermento. Puede decirse que muchas formaciones de fermentos son catalizadas por varias substancias, y quizás la formación del fermento puede a su vez ser efecto de acciones fermentativas. No estamos muy lejos de entrever la autorregeneración de los fermentos, si pensamos en el fenómeno de TWORT-D'HÉRELLE (pág. 239) y las investigaciones que de él se derivan.

Un fermento puede transformar un profermento o zimógeno en fermento completo : así, la enteroquinasa del jugo intestinal convierte el tripsinógeno pancreático en tripsina, pero la transformación de los profermentos en fermentos puede ser efecto también de substancias sencillísimas, por ejemplo sales.

Las investigaciones de JACOBY (1) aclaran la formación de los fermentos por obra de las células relativamente sencillas, como las bacterianas : éstas se refieren especialmente a la determinación de las condiciones en las cuales ciertas bacterias, por ejemplo *Proteus*, cultivadas en medios sintéticos sencillos, de composición química bien conocida, pueden fabricar *ureasa* (fermento que descompone la urea en NH_3 y CO_2) y catalasa (que descompone el agua oxigenada en agua y oxígeno). JACOBY ha demostrado, por ejemplo, que entre los hidratos de carbono, sólo los que tienen 3 ó 6 átomos de carbono, pueden favorecer la formación de fermentos (se trata aquí de fermentos que no obran sobre los hidratos de carbono sino sobre otros substratos) : la célula viva debe poseer engranajes aptos para elaborar cadenas de carbono de un tipo determinado y no de otro. De todos modos, aquellos hidratos de carbono son favorables, pero no indispensables, para la formación de la enzima ; en cambio, los aminoácidos son indispensables para su formación y unos más que otros, según sean las células y las enzimas estudiadas. Así, por ejemplo, los *Proteus* sólo forman

(1) Resumidas en *Klin. Woch.*, 1922, n.° 4.

ureasa si se les administra leucina, y precisamente la leucina preparada por desintegración proteica, mientras que la leucina sintética no sirve. JACOBY cree justamente en analogías con la acción de las vitaminas

Véase, pues, como las células trabajan con exigencias bien definidas hasta cuando se fabrican sus propios instrumentos como son los fermentos y, además, cuánto es lo que queda por explorar en este campo tan interesante para el médico.

f) CLASIFICACIÓN DE LOS FERMENTOS.

Como orientación preliminar transcribimos en la página siguiente el cuadro debido a PLIMMER (1), a pesar de que sea incompleto, pues en él faltan enzimas importantes, como algunos agentes del metabolismo púrico, la aldehidasa, etc., y no tiene en cuenta las ideas actuales sobre la fermentación según la cual se considera que no es un simple proceso hidrolítico, sino un ataque más complejo de la cadena de átomos de carbono, con su fragmentación irreversible.

Nosotros, sin embargo, debemos atenernos a una subdivisión más moderna, que tiene en cuenta los trabajos de NEUBERG, THUMBERG y WIELAND acerca de las fermentaciones y sobre las oxidaciones intraorgánicas, y dividir las enzimas en dos grandes grupos : las *hidrolasas* y las *oxidoreductasas*.

Las *hidrolasas*, son el grupo más numeroso de enzimas y actúan acelerando las divisiones hidrolíticas, es decir, las reacciones en las cuales se emplea una molécula de agua, que se divide en OH y H para romper la unión entre los átomos de C y de N o entre C y O.

En ellas se incluyen :

Las *esterasas*, que escinden diversos ésteres, por lo tanto también las grasas neutras, en cuyo caso los fermentos se llaman *lipasas*. En este subgrupo entran también las lecitinasas.

Las *carbohidrasas* que desintegran disacáridos (como la *maltasa* y la *sacarasa*, que atacan la maltosa y la sacarosa) o polisacáridos *(amilasa, celulosa)*.

Las *glicoxidasas* que escinden los glucósidos (que son éteres) y por lo tanto tienen íntimas relaciones con las precedentes. Son frecuentes en el reino vegetal *(emulsina* que desdobla la salicina en saligenina, aldehido benzoico y HCN) ; en el reino animal tenemos las *nucleoxidasas* que atacan los nucleóxidos.

Las *amidasas*, que desintegran los cuerpos con grupo amínico o amídico, como la *ureasa* de ciertas bacterias, que escinde la urea en CO_2 y NH_3 ; la *desaminasa* de que hablaremos a propósito del metabolismo de los proteicos, que activa la desaminación de los aminoácidos; el grupo de los fermentos que rompen el enlace carboamínico en los polipéptidos y peptonas y, por lo tanto, desintegran éstos en aminoácidos (peptasa o ereptasa). Podemos incluir además las *proteasas*

(1) *Organ. a. Biochemistry*, Longmans, 1918.

que desdoblan las proteínas intactas hasta peptonas, como la *pepsina*, o hasta aminoácidos, como la *tripsina* ; se encuentran también proteasas en los leucocitos y en los tejidos (fermentos autolíticos), así como en las neoplasias (fermentos autolíticos y heterolíticos). También el fermento lab es una proteasa.

Las *óxidoreductasas* son enzimas que aceleran los fenómenos de *óxidorreducción*, muy importantes en Biología, que se desarrollan tanto en las fermentaciones producidas por las levaduras, como en el metabolismo de los organismos superiores. En estos procesos tiene lugar simultáneamente una oxidación y una reducción, por cuanto general-

CLASIFICACIÓN DE LOS FERMENTOS (según PLIMMER)

ENZIMA	SUBSTRATO	PRODUCTOS
A. HIDROLÍTICOS		
I. *Sacaroclásticos* :		
Diastasa o amilasa	Almidón, glucógeno	Dextrina + maltosa.
Inulasa	Inulina	Fructosa.
Invertasa o sucrasa	Sacarosa	Glucosa + fructosa.
	Rafinosa	
Lactasa	Lactosa	Glucosa + galactosa.
Maltasa o α-glucasa	Maltosa	Glucosa + glucosa.
	α-glucósidos	α-glucosa + otros componentes del glucósido.
Emulsina o β-glucasa	β-glucósidos	β-glucosa + otros componentes del glucósido.
	Amigdalina	Benzaldehido + HCN + glucosa
Zimasa	Glucosa	CO_2 + alcohol etílico.
	Fructosa	
	Manosa	
	Galactosa	
II. *Lipoclásticos* :.		
Lipasa	Grasas neutras	Ácidos grasos + glicerina.
III. *Proteoclásticos* :		
Pepsina	Proteína	Peptona y proteosas.
Tripsina	Id	Aminoácidos.
Erepsina	Proteosas y peptonas (polipéptidos)	Id.
Papaína	Proteínas	Id.
B. OXIDASAS		
Catalasas	Peróxido de hidrógeno (R_2O_2)	Oxígeno molecular y agua.
Peroxidasas	Peróxidos (H_2O_2 o peróxidos orgánicos)	Oxígeno *activo* o atómico y óxidos inferiores u otros productos de reducción.
C. DESAMINASAS		
Guanasa	Guanina	Xantina.
Adenasa	Adenina	Hipoxantina.
Aminoacidasas o desaminasas de los aminoácidos	Aminoácidos	Hidroxiácidos o cetoácidos.
D. CARBOXILASAS	Cetoácidos	CO_2 + aldehidos.
	Aminoácidos	CO_2 + aminas.

mente una molécula de agua es dividida en H_2 y O y mientras el primero reduce un cuerpo, el segundo oxida otro (óxidorreducción hidroclástica según OPPENHEIMER). Un ejemplo clásico de estos fenómenos es la llamada reacción de CANNIZZARO, en la cual un aldehido es en parte oxidado hasta ácido y en parte reducido a alcohol, según el esquema siguiente :

$$\left.\begin{matrix} R\cdot COH \\ R\cdot COH \end{matrix}\right\} + \begin{matrix} H_2 \\ O \end{matrix} \rightarrow \begin{matrix} R\cdot CH_2OH \\ R\cdot COOH. \end{matrix}$$

Las reacciones de este género son catalizadas por las llamadas *aldehidomutasas* o *aldehidasas*, que se encuentran en los tejidos de los animales. Una aldehidomutasa es la *glioxilasa* de ciertas bacterias y de ciertos tejidos de los animales superiores, la cual produce una especie de reacción *interna de* CANNIZZAEO sobre el metilglioxal ($CH_3\cdot CO\cdot COH$), porque el grupo aldehídico es oxidado hasta carboxilo, mientras que el grupo cetónico es reducido a grupo alcohólico secundario, según el esquema :

$$\left.\begin{matrix} CH_3 \\ | \\ CO \\ | \\ COH \end{matrix}\right\} + \begin{matrix} \\ H_2 \\ O \end{matrix} = \begin{matrix} CH_3 \\ | \\ CH\cdot OH \\ | \\ COOH \end{matrix}$$

Así pues, el metilglioxal adquiere una molécula de agua y se transforma en ácido láctico. Esta es la reacción por la cual el ácido láctico se forma como producto de estabilización del metilglioxal en la fermentación láctica, variedad de la alcohólica, y quizás también en las células de los organismos superiores.

Según las ideas más recientes de WIELAND, la oxidación intraorgánica consiste esencialmente en procesos de deshidrogenación, y los fermentos que las activan deberían llamarse *deshidrogenasas*. He aquí el esquema que veremos luego mejor : un cuerpo es oxidado cuando pierde H (deshidrogenación). Este H, *hidrógeno labilizado*, debe ser fijado por un segundo cuerpo que, por lo tanto, es *reducido* por esta adición de H y se dice que actúa como receptor del hidrógeno lábil. ¿Cuál es el receptor? Puede ser el oxígeno libre, con el cual se verifica la reacción $2H + O_2 = H_2O_2$; este peróxido de hidrógeno a su vez fija todavía H, pues : $H_2O_2 + 2H = 2H_2O$, por lo cual finalmente se forma agua ; este proceso quizás se desarrolla en el organismo. También pueden actuar como receptores substancias diversas: aldehidos, azul de metileno, el agua oxigenada añadida directamente, como en ciertas reacciones *in vitro*, etc.

De todos modos, tanto si se considera el tipo de la reacción de oxirreducción hidroclástica o este de la oxirreducción por desprendimiento de átomos de H, siempre las oxidaciones y reducciones se realizan como *reacciones acopladas*. Depende sólo de las circunstancias, de los reactivos usados el que se ponga más en evidencia una u otra de las reacciones parciales, y por esto generalmente, exceptuando unos pocos casos, no se habla de oxidasas y reductasas verdaderas y puras, de enzimas que catalizan únicamente las oxidaciones o las reducciones, sino de óxidorreductasas.

Los pocos casos en los cuales nos encontramos con enzimas aceleradoras de procesos únicamente de oxidación por medio del O atmosférico, son quizás aquéllos debidos a las *oxidasas* que catalizan la oxidación de ciertos grupos cromógenos o substancias colorantes (melaninas, etc.).

La *zimasa* y, en general, el grupo de las enzimas de la fermentación, se pueden incluir en gran parte entre las óxidorreductasas, pero si se reflexiona acerca del desarrollo de la fermentación alcohólica, veremos que en ella toman parte otras enzimas de tipo vario, entre las cuales se encuentra la *carboxilasa*, bastante difundida por el mundo animal y vegetal y que quizás ocupa un lugar propio. Es éste el fermento que desdobla el CO_2 del grupo carboxilo de los ácidos orgánicos : quizás existen también carboxilasas que catalizan la formación del CO_2 en los tejidos de los animales, pues, no parece que este gas tenga su origen en la oxidación directa del carbono (véase más adelante).

La fermentación alcohólica del azúcar, como la combustión de éste en los tejidos de los animales, es un proceso complejo, un sistema de *reacciones acopladas* y *encadenadas* entre las cuales hay reacciones hidrolíticas, óxidorreductoras y descarboxilantes.

Finalmente, debemos citar entre las óxidorreductasas las *catalasas* que, como tantos coloides inorgánicos (especialmente soles metálicos), catalizan el desdoblamiento del H_2O_2, en agua y oxígeno molecular : $2H_2O_2 = 2H_2O + O_2$.

Existen en todos los tejidos, y deben tener una función que quizás consiste en descomponer y hacer desaparecer rápidamente el peróxido de hidrógeno, tóxico, que se forma en las oxidaciones intraorgánicas. La catalasa es interesante también porque, como los catalizadores metálicos citados, puede ser *envenenada* e inhibida reversiblemente por el HCN.

En cada uno de los capítulos acerca de las funciones químicas del organismo sano y enfermo expondremos los caracteres fundamentales de los fermentos correspondientes.

g) EL BACTERIÓFAGO DE TWORT-D'HÉRELLE.

Con el descubrimiento del llamado bacteriófago de D,HERELLE (1), descubrimiento ya realizado en 1915 por TWORT (2), por lo cual se habla actualmente del fenómeno de TWORT-D'HÉRELLE, se entra en

(1) *Compt. rend. Acad. d. Sciences*, 1917.
(2) *Lancet*, 1915.

un campo completamente nuevo, que puede abrir quizás el camino a nuevas concepciones bioquímicas. El fenómeno consiste en lo siguiente: en el organismo del hombre y de los animales, de manera clarísima en el tubo digestivo, pero a veces también fuera del organismo, existe un agente capaz de disolver algunas bacterias, una *lisina*, con un cierto grado de especificidad (así, por ejemplo, la del tubo digestivo de los enfermos de infecciones intestinales disuelve el agente patógeno respectivo), la cual tiene la particularidad de reproducirse indefinidamente ; es, pues, un agente lítico *lisinógeno*, como si fuese un agente vivo, tanto que D'Hérelle ha pensado en una especie de ultramicrobio, que infectaría a las bacterias, las haría enfermar y las destruiría, y estaría siempre en disposición de agredir a nuevos individuos bacterianos. Actualmente se tiende a explicar este fenómeno, para el estudio de cuyos detalles recomendamos el excelente resumen de Doerr (1), mediante acciones enzimáticas, las cuales deben comprender ciertamente propiedades hasta ahora desconocidas en los fermentos solubles o enzimas. Casi habría que borrar el límite entre lo viviente y lo no viviente si, como parece, se debe admitir la existencia de enzimas capaces de regenerarse por sí solas o enzimas capaces de imprimir a las células vivientes y en reproducción una característica tal, que éstas adquieran a su vez la propiedad de reproducir la misma enzima (una experiencia del tipo de D'Hérelle es la siguiente : una maceración de heces de disentérico convaleciente, exenta de bacterias, por filtración por bujía Chamberland, añadida a un cultivo en caldo de bacilos disentéricos, produce la disolución completa de éstos ; una pequeña cantidad de este cultivo disuelto, trasladada a un nuevo cultivo fresco, la disuelve a su vez, y así indefinidamente). El agente *lísico lisinógeno* resiste a la temperatura de 57°-60° durante una hora ; su acción, pero no su formación (por las bacterias). es inhibida por la gelatina y el agar (2) ; parece tener las dimensiones moleculares de las proteínas ; no solamente es filtrable, sino que recientes experimentos de Putter y Vallen (3) tienden a demostrar que el poder bacteriófago *lísico lisinógeno* es adquirido por el caldo o las mezclas de caldo y bilis estéril cuando se filtran a través de un filtro con membrana de De Haën : hecho singular, paralelo al observado por Ehrenberg y Löwenthal en la caseína disuelta y filtrada, que adquiere poder autolísico (pág. 228).

Advirtamos, sin embargo, que ni Gildemeister ni Herzberg (4) han conseguido obtener en los citados medios de cultivo una producción semejante del agente enzimático por medio de la filtración. Es cierto, sin embargo, que en los *cultivos* de varios gérmenes, colocados sencillamente a 37° y filtrados luego, aparecen lisinas de este tipo (5).

(1) *Klinische Wochenschr.*, 1922, n.° 30 y 31.
(2) Doerr y Berger, *Zeitschr. f. Hyg.*, vol. XVCII, 1923.
(3) *Klin. Wochenschr.*, 1923, n.° 8.
(4) *Centralbl. f. Bakt.*, I Abt. Org., vol. XCI, fasc. 1.°, 1923.
(5) Otto y colaboradores, *Zeitschr. f. Hyg.*, vol. XCVI, 1922 ; Gildemeister y Herzberg, loco citato.

Parece ser regla general que toda lisina que posee cierto grado de especificidad, se multiplica durante la reproducción de los gérmenes correspondientes.

D'Hérelle y otros, han hecho tentativas de aplicación profiláctica y terapéutica de este principio bacteriófago, que ha abierto nuevos horizontes a la práctica inmunitaria.

Algunos suponen que el *virus* filtrable del sarcoma de las gallinas de Rous sea en su esencia parecido al bacteriófago : en él habría un agente químico que excitaría las células y las haría proliferar (tumor), y que al mismo tiempo se regeneraría por las mismas células que habría atacado.

SEGUNDA PARTE

Las funciones químicas del organismo en condiciones normales y patológicas

SECCIÓN I

LA ALIMENTACIÓN

CAPÍTULO I

De la alimentación en general y principalmente desde el punto de vista cuantitativo

a) Alimentos : definición y funciones.

El protoplasma, mientras dura la vida, presenta incesantemente dos clases de fenómenos opuestos : fenómenos de desintegración *(catabólicos)* con liberación de energía y fenómenos reintegrativos *(anabólicos)* con almacenamiento de energía exterior. La substancia viviente se encuentra, pues, en un estado de continua descomposición y recomposición, en estado de *equilibrio dinámico*. Los caracteres fundamentales de la estructura y composición química del protoplasma se conservan, pues, constantes (salvo oscilaciones dentro de límites restringidos) no por medio de la inmovilidad, como en un *equilibrio estático*, sino mediante mutaciones regulares continuas, automáticamente disciplinadas que implican un flujo continuo de *materia* y de *energía* a través del cuerpo viviente, el cual se comporta como un maravilloso transformador, pero no como creador, a lo menos para las formas de energía que nosotros conocemos. Una suspensión de este flujo perfectamente equilibrado de materia y de energía significa primero una grave alteración de los procesos vitales, y luego la muerte. Adviértase, sin embargo, que la suspensión completa de las aportaciones materiales y energéticas no implica inmediatamente la muerte del organismo : éste dispone de materiales de reserva que puede consumir para las necesidades esenciales durante un cierto tiempo, y tiene además el poder de reducir automáticamente estas últimas a un mínimo, por lo cual el organismo puede, durante un período de tiempo más o menos largo, continuar viviendo aun cuando se haya establecido una discontinuidad entre la entrada material y energética y las salidas, es decir, que aunque la primera esté suspendida total o par-

cialmente, las segundas continúan inevitablemente, mientras dura la vida, si bien están reducidas.

Normalmente debe haber un equilibrio entre las entradas y las salidas : ésta es la única forma de que se mantengan el equilibrio funcional y la composición normal del cuerpo ; en cambio, durante el período de crecimiento, cuando debe formarse nueva substancia viva, las entradas deben ser superiores a las salidas.

Las substancias que el organismo adquiere del exterior para fabricar sus propios materiales constructivos y para extraer de ellos la energía necesaria a sus necesidades funcionales, son los llamados *alimentos* o *substancias alimenticias*. Los alimentos, pues, responden a dos necesidades : por una parte sirven para la reintegración material, son materiales *plásticos* o de restauración ; por otra parte son fuentes de energía, son principios *dinamógenos* y, por lo tanto, deben estar dotados de un cierto potencial energético (energía química). Algunos alimentos (sales y agua) asumen puramente la función de restauración material ; otros, sólo o preferentemente, la de aportación de energía (si incluímos entre ellos el oxígeno) ; otros —los más complejos— cumplen, aunque en grado distinto, ambos fines : el material y el energético (proteínas, grasas, hidratos de carbono). Por lo demás, no puede señalarse una distinción clara y absoluta entre estas dos maneras de considerar los alimentos, porque aun aquellos materiales alimenticios que por sí mismos poseen sólo la función renovadora de materiales, como el agua y las sales (los cuales no contienen ciertamente ninguna energía química utilizable) tienen también una enorme importancia para la corriente energética en el organismo, porque colaboran al mantenimiento del estado físico del protoplasma que mejor se presta para la utilización de la energía. Así pasa cuando, por ejemplo, determinan el aumento de la superficie en los sistemas microheterogéneos y, por lo tanto, la mayor o menor manifestación de la energía de superficie que tanto interviene en los fenómenos vitales, o cuando son causa de la diversidad de concentración iónica alrededor de membranas y sirven de base a fenómenos eléctricos y quizás también de excitabilidad en los tejidos.

En la actualidad sabemos también que existen los llamados factores accesorios o de integración (vitaminas), substancias que obran a dosis mínimas con efectos notabilísimos, las cuales no parecen ser suministradores de energía, ni tampoco substancias plásticas propiamente dichas, sino mejor *reguladores* de las funciones celulares, algo como unas *hormonas exógenas* o catalizadores de determinados actos de la vida celular. Estas materias no encajan, por lo tanto, en la división clásica de las funciones alimenticias, o por lo menos no podemos incluirlas con seguridad en dicha clasificación, y, sin embargo, *deben* estar presentes en los alimentos para que éstos tengan su completa eficacia restauradora y energética (véase lo referente a la alimentación incompleta). Los alimentos de función plástica deben, pues, proporcionar los materiales constitutivos a las células y también los materiales

necesarias para que éstas puedan fabricar productos especiales o substancias que, propiamente hablando, son extrañas a su composición, tales como los productos de secreción, las substancias paraplasmáticas (tejidos de sostén), etc. Así puede suceder que ciertos constituyentes de la alimentación sean necesarios para la fabricación de hormonas, como supone HOPKINS para el triptófano (esta suposición se podría precisar en la actualidad admitiendo que este aminoácido sirve, por ejemplo, para la fabricación de la hormona tiroidea o *tiroxina de* KENDALL).

De las substancias alimenticias que hemos denominado plásticas, algunas como las sales, pueden ser utilizadas directamente, pero otras han de sufrir transformaciones más o menos profundas, para que las células puedan fijarlas y hacer de ellas substancia propia o, como se dice, *asimilarlas*. Puede decirse que uno de los objetos del tubo digestivo es el de quitar a las proteínas de los alimentos, que son (excepto en los casos de canibalismo, no excepcionales en el reino animal) proteínas heterólogas, el sello constitutivo original, la especificidad zoológica o botánica primitiva, para formar con ellos materiales simples, principalmente aminoácidos, con los cuales después las células reconstruirán sus albuminoides propios. Las transformaciones que deben experimentar las garsas y los hidratos de carbono para hacerse *afines* al protoplasma son, ciertamente, menores : así, en los depósitos de grasa pueden depositarse grasas con los caracteres de las que se han ingerido como alimento, y ciertas grasas de composición anormal o coloreadas artificialmente y suministradas por vía digestiva pueden aparecer en las células en estado de adiposis patológica (envenenamiento por el fósforo o el arsénico), lo que comprueba la naturaleza infiltrativa de esta adiposis y la posibilidad de que se reabsorban los acúmulos de grasas extrañas. Pero también para las grasas, y sobre todo para ciertos lipoides deben existir leyes de especificidad bien precisas si consideramos no las grasas acumuladas o de infiltración patológica, sino las grasas y lipoides de los órganos activos y con alta dignidad funcional. Por lo que se refiere a los hidratos de carbono, también parece que existen diferencias en el comportamiento del organismo respecto a las diversas variedades de glucosa (pág. 52, nota), de donde se deduce que ésta, a pesar de ser uno de los alimentos de naturaleza orgánica más sencillos, debe sufrir un trabajo de verdadera asimilación, consistente quizás en modificaciones de su configuración molecular.

Sea como fuere, este trabajo de preparación, de depolimerización de los compuestos más complejos en otros más sencillos por medio de fenómenos de escisión hidrolítica efectuados con la ayuda de variados fermentos, de desnaturalización de los compuestos originarios, de simplificación y de solubilización, trabajo complicado que pertenece al tubo digestivo, altera muy poco el valor energético de los alimentos, y podemos prescindir de él al hablar del *problema de la alimentación pura* desde el punto de vista de la aportación material y sobre todo de la energética. Sin embargo, debemos tener en cuenta las funciones

digestivas porque parte de los alimentos puede escapar a las transformaciones dichas y por lo tanto puede ser eliminada como material no utilizado, por lo cual esta porción debe restarse del valor material y energético introducido si queremos calcular las verdaderas entradas *netas* del organismo, las que han atravesado el aparato intestinal absorbente ; por otra parte, si queremos hacer un balance energético exacto, no debemos olvidar que en el trabajo digestivo se consume una cierta cantidad de energía, como comprenderemos si nos fijamos en las activas funciones musculares, glandulares y circulatorias que la digestión reclama.

De todo lo dicho se deduce que podemos dividir los alimentos desde el punto de vista químico según el mismo criterio con que clasificamos los constituyentes corpóreos, o sea en proteínas, grasas, hidratos de carbono, agua y componentes minerales (sales). También podemos añadir, según muchos, el oxígeno porque la transformación de la tensión química existente en el sistema oxígeno + alimentos de naturaleza orgánica es la que produce todas las manifestaciones energéticas de los organismos animales.

Durante mucho tiempo se ha insistido en querer diferenciar las plantas y los animales según el tipo de su nutrición respectiva : se ha dicho que sólo residen en las plantas las verdaderas funciones sintéticas que transforman los elementos simples en compuestos y que, por ejemplo, elaboran proteínas con el nitrógeno de substancias tan sencillas como los nitratos y fabrican hidratos de carbono a partir del agua y del carbono producido por la escisión del CO_2 de la atmósfera en los órganos provistos de clorofila ; en cambio, los animales desintegrarían esencialmente los materiales alimenticios complejos procedentes de las plantas, y los oxidarían y descompondrían en compuestos sencillos (CO_2, H_2O, NH_2, etc.). Esta es la *teoría dualista de* la vida, según la cual la planta y el animal se completarían mutuamente, por poseer, como dice LAMBLING, una especie de semiexistencia cada uno, creando las primeras el material que los segundos destruyen. La planta sería un aparato de reducción y de síntesis ; el animal, un instrumento de oxidación y de división. El dualismo debería existir también en el sentido energético : la planta convertiría la energía actual de las radiaciones solares en energía potencial, almacenándola en forma de energía química en los complejos materiales fabricados por ella, mientras que el animal transformaría esta energía potencial en actual, calor y movimiento. De aquí la célebre comparación de la planta a un peso que sube, y del animal a un peso que cae.

Pero actualmente este antagonismo no es admisible. Es cierto que el vegetal fabrica grandes masas de substancias de reserva, que utiliza generalmente materiales sencillos como los nitratos para procurarse el nitrógeno necesario para la síntesis de los albuminoides, y que puede verificar un maravilloso trabajo de síntesis, tal como la función clorofílica, propia únicamente de las plantas verdes. Se comprende, pues, que el vegetal nos admire principalmente por su actividad sintética,

pero también desintegra, oxida y produce CO_2, consumiendo oxígeno, desarrollando calor y desenvolviendo quizás actividades mecánicas rudimentarias. Por otra parte, el animal, si bien se distingue por sus notables manifestaciones energéticas y por la intensidad de los fenómenos desasimilativos, tiene también cierto poder sintético : efectivamente, los animales, aun los más elevados, fabrican en sus propias células las proteínas, partiendo de compuestos relativamente sencillos como los aminoácidos. No es inverosímil que ciertos animales, especialmente con la ayuda de la flora bacteriana intestinal, utilicen el N de los compuestos amoniacales y de las amidas (urea, asparraguina), pero aparte de esto, todos absorben el N en forma de aminoácidos, es decir, que tienen un poder sintético que, si no llega al de los vegetales (que pueden utilizar el N de los nitratos) o al de ciertas bacterias que son capaces de fijar en su protoplasma el N del amoníaco y hasta el N libre del aire), basta para operar la copulación de los aminoácidos en polipéptidos y para la síntesis de los albuminoides.

Para la alimentación animal es indispensable la presencia de proteínas : pero sin hablar de que esta exigencia la presentan también algunos microfitos, como ciertas bacterias patógenas que necesitan proteínas especiales (hemoglobina para los bacilos hemófilos; albuminoides humanos para el gonococo, etc) debemos dejar bien sentado que las proteínas sirven sólo como vehículos de los aminoácidos, porque sólo ellas son capaces de cubrir de un modo más o menos perfecto la necesidad de los 18 ó 20 aminoácidos que son componentes esenciales del protoplasma, ya que en la Naturaleza no existen en abundancia otros compuestos integrados por aminoácidos, ni tampoco los animales se pueden procurar estos aminoácidos en estado libre. En cambio, como veremos con más amplitud al hablar de la alimentación incompleta, se ha comprobado que una mezcla de los productos de la digestión de una proteína sirve, igual que la proteína original, para subvenir a las necesidades de substancias nitrogenadas.

Además, el organismo animal fabrica con materiales inorgánicos el grupo prostético de muchos proteicos : con el Fe inorgánico y el P inorgánico fabrica respectivamente el cromógeno del pigmento hemático y el ácido nucleínico de los núcleoproteidos, siempre que disponga de los otros materiales que los integran. Finalmente, la transformación de los hidratos de carbono en grasas es un proceso de reducción y de síntesis, porque las grasas contienen menos oxígeno y tienen cadenas de carbón más largas, y éste es un proceso que se realiza continuamente en los organismos animales.

Como LAMBLING expresa claramente, las diferencias entre plantas y animales respecto al mecanismo alimenticio nutritivo se reducen a las relaciones que existen entre ambas categorías y el medio exterior : la planta lo recibe todo del reino mineral ; el animal, sólo algunos constituyentes, mientras que la mayoría debe encontrarlos preformados en el mundo orgánico (plantas u otros animales). La planta verde puede utilizar directamente (gracias a sus granos de clorofila) la ener-

gía radiante del sol; el animal sólo aprovecha la energía química almacenada en los cuerpos orgánicos más o menos complejos.

De todo lo dicho resulta que los alimentos pueden evaluarse desde el punto de vista puramente *cuantitativo* y *energético;* en este sentido su valor se calcula en calorías (calorías grandes, siendo la *caloría grande* la cantidad de calor necesario para elevar de 0° a 1° la temperatura de un kilogramo de agua), es decir, que se define por las calorías que cada alimento produce al quemarlo en la bomba calorimétrica. Pero los alimentos también deben valorarse desde el punto de vista *cualitativo*, en relación con su capacidad para proporcionar determinados materiales constitutivos que el organismo no puede fabricar con otras substancias y que, por lo tanto, deben formar parte del régimen alimenticio completo (tal es el caso de ciertos aminoácidos, de ciertos constituyentes minerales, etc.) y, además, en relación con su riqueza en principios no precisamente constitutivos, sino reguladores o excitantes más o menos específicos y siempre necesarios (tales son las vitaminas, de las que ya hablaremos, y quizás ciertos fermentos u hormonas del organismo que proporciona el material alimenticio, todos los cuales tienen funciones excitantes o reguladoras sobre el organismo que los ingiere).

Podremos, pues, distinguir en el valor alimenticio los tres aspectos siguientes:

Cuantitativo. ..... valor energético en calorías
Cualitativo. ..... { valor constructivo
valor regulador.

Pero debemos observar inmediatamente que no existen siempre criterios claros para definir el valor real de un principio alimenticio, como veremos al hablar de las vitaminas, de las cuales no se sabe con seguridad si son metabólicas o sólo (y esto parece lo más probable) principios reguladores.

En resumen, podremos definir como substancias nutritivas todas aquellas materias externas que sirven al organismo viviente para un cierto fin (Oppenheimer), procurando después averiguar si proporcionan energía, materiales constitutivos o principios reguladores. Dejando aparte el agua y algunas sales, que son ingeridas separadamente (bebidas, sal de cocina), y exceptuando también el oxígeno, que ingresa gracias a la función respiratoria externa y que no todos consideran como un verdadero alimento (1), todas las demás substancias nutritivas son proporcionadas en forma de tejidos y órganos de animales y vegetales. Estos son los verdaderos *alimentos*, que las operaciones culinarias hacen agradables, fácilmente ingeribles, convenientemente divididos mecánicamente o modificados por agentes físicos (calor) o químicos (fermentaciones, sazonamientos, etc.), y que el tubo digestivo transforma de tal modo que las substancias heterólogas complejas se convierten en verdaderos alimentos celulares, absorbibles y asimilables, los cuales son esencialmente aminoácidos, azúcares, grasas emulsionadas o ácidos grasos. La sangre es el distribuidor natural de estos alimentos sencillos entre las células a que están destinados.

(1) En condiciones experimentales, el oxígeno puede actuar también como excitante electivo de algunos aparatos, como del inhibidor del corazón: a esto se debe el *fenómeno paradójico* de Galeotti y Signorelli (suspensión de los latidos del corazón de rana con O_2 puro; reactivación con CO_2): *Rendiconto Acc. Lincei*, vol. XVIII, serie 5.ª, fasc. 1-2. No sabemos con certeza si este gas, además de la función oxidante y desarrolladora de energía, tiene también a veces una función excitadora especial; quizás las experiencias de G. y S. sean un indicio interesante para el estudio de las aplicaciones terapéuticas de las inhalaciones de O_2.

b) Ley de la isodinamia y ley del mínimo.

En Fisiología alimenticia destacan dos leyes que tienen, sin embargo, alcance y aplicación diversos:

1.ª *La ley de la isodinamia*, según la cual una substancia alimenticia equivale a otra y puede sustituirla con tal de que ambas aporten el mismo número de calorías. Si un organismo necesita 2000 calorías en un período dado de tiempo, tanto da administrárselas en forma de proteínas, como de hidratos de carbono o de grasas. Así, si el valor de la combustión de 1 gr. de proteína o de hidrato de carbono es de 4,1 calorías (calorías grandes), para proporcionar las 2000 calorías será lo mismo dar 500 gr. de proteínas ó 500 gr. de hidratos de carbono, y como 1 gr. de grasa, quemada en el calorímetro, desprende 9,3 calorías en vez de 500 gr. de azúcar o de albuminoides, bastará suministrar 220 aproximadamente de grasa para obtener el mismo efecto.

2.ª *La ley del mínimo*, según la cual es necesario administrar un mínimo de ciertos alimentos esencialmente constitutivos, por debajo del cual no se puede descender si no queremos colocar al organismo en *déficit*. Esta ley es la limitación de la precedente, limitación tanto más severa cuanto más progresan los estudios de Bioquímica. Desde los tiempos de Voit está demostrada la absoluta necesidad de un mínimo *albuminoideo*, cuyo valor se fijó entonces en unos 100 gr. de proteínas por día; más adelante insistiremos varias veces acerca del valor de este mínimo, pero digamos ya que la administración mínima de proteínas, es decir de aminoácidos, es necesaria para compensar, *por lo menos*, el inevitable desgaste de los tejidos debido al desarrollo de los procesos vitales. Por lo tanto, para proporcionar 2000 calorías diarias no es completamente indiferente la cantidad de las substancias que las aportan: la isodinamia no es válida para unas 400 calorías por lo menos, que deben ser proporcionadas por proteínas (100 gr. o más), ateniéndonos por ahora a la cifra de Voit, mientras que para las otras 1600 subsiste en su validez, permitiendo la elección entre grasas e hidratos de carbono. Pero existen importantes motivos para suponer que tampoco es perfecta la isodinamia entre las grasas y los hidratos de carbono, debiendo existir en la dieta un mínimum de grasa.

STARLING (1) cree que las grasas, a causa de permanecer más tiempo en el estómago y en todo el tubo digestivo, son preferidas hasta cierto punto por el hombre, el cual para trabajar necesita que el tubo digestivo no esté completamente vacío. Además, algunas grasas son vehículo de factores accesorios y reguladores esenciales (vitamina A), cosa que también puede explicar la necesidad de un mínimo de grasa (según STARLING, 20-25 % del cómputo diario en calorías debería ser proporcionado por ellas, y hasta 30-35 % en los niños). La ley del mínimo rige también severamente para las sales inorgánicas, como veremos mejor al hablar de la alimentación incompleta, y puede decirse que también rige para las vitaminas o factores accesorios, que estudiaremos aparte.

c) COCIENTE RESPIRATORIO EN RELACIÓN CON LOS ALIMENTOS.

La composición centesimal media de las tres grandes clases de alimentos capaces de desarrollar energía, es la siguiente :

	Proteínas	Grasas	Hidratos de carbono
C	52	76,5	40
H	7	11,9	6,6
O	23	11,6	53,3
N	16	—	—
S	2	—	—

A primera vista ya se nota que las grasas contienen mucho menos O y bastante más H que los hidratos de carbono ; son, por decirlo así, menos oxidadas que éstos y, por lo tanto, para quemarse hasta llegar a los productos finales CO_2 y H_2O, una grasa necesita proporcionalmente más oxígeno que un hidrato de carbono. Esta consideración puede deducirse también observando sus fórmulas : la fórmula de un hidrato de carbono, por ejemplo la glucosa, contiene O y H en la misma proporción en que estos elementos se encuentran en el agua, por consiguiente posee dos átomos de H por cada uno de O y además contiene C : el agua está, por decirlo así, preformada en el hidrato de carbono, y el oxígeno sólo se necesita para quemar el C. Por el contrario, de la fórmula de una grasa se deduce que, además del O necesario para quemar el C, se necesita otra cantidad de O para completar la combustión del H hasta H_2O. Las proteínas se encuentran en el mismo caso que las grasas.

He aquí, pues, que la influencias que las tres clases de alimentos ejercen sobre el cambio gaseoso es distinta, como también es diferente la que determinan sobre la composición de los productos de excreción urinaria. Tan sólo las proteínas dan productos de oxidación nitrogenados y sulfurados que se eliminan por la orina, de los que hablaremos a su debido tiempo, pero los tres grupos de materiales alimenticios producen en la oxidación intraorgánica CO_2 y H_2O, de los cuales el

(1) *Brit. med. Journ.*, 3 agosto 1918.

primero (CO_2) es un producto gaseoso que se elimina por los pulmones, a través de los cuales se verifica también la absorción del oxidante, el oxígeno. Los tres grupos de alimentos influirán, por lo tanto, en la eliminación de CO_2 considerada en relación con el O_2 absorbido, o sea en el cociente $\frac{CO_2}{O_2}$ también llamado *cociente respiratorio*, que puede definirse diciendo que es la relación en volumen entre el CO_2 eliminado y el O_2 introducido en el mismo tiempo. Pero la modificación que cada grupo de alimentos imprime al cociente respiratorio es muy distinta : supongamos un organismo que sólo quema hidratos de carbono, los cuales podemos considerar convertidos en glucosa, por ser éste el término común de la digestión y absorción de casi todos ellos ; fijémonos en que, para oxidar totalmente una molécula de $C_6H_{12}O_6$, se necesitan 6 moléculas de oxígeno, de modo que tendremos :

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 = 6CO_2 + 6H_2O$$

o sea, que por cada 6 volúmenes de O_2 introducidos corresponden 6 volúmenes de CO_2 eliminados. El cociente será $\frac{6}{6} = 1$.

Por el contrario, consideremos una grasa tal como la tripalmitina (la estearina, como grasa de punto de fusión más alto, apenas es absorbida por el intestino y pasa a las heces en su mayor parte). Su fórmula empírica es $C_{51}H_{98}O_6$, y para quemarla toda, necesitamos 102 átomos de oxígeno para los 51 de C, y 49 átomos de oxígeno para los 98 de hidrógeno, o sea un total de 151 átomos de oxígeno, de los cuales debemos restar los 6 ya presentes en la molécula, por lo tanto : 151 —6 = 145. Pero el oxígeno atmosférico debemos evaluarlo en moléculas y como la molécula de oxígeno atmosférico es biatómica, para oxidar completamente dos moléculas de tripalmitina se necesitan 145 de O_2, según la reacción :

$$2 \cdot C_{51}H_{98}O_6 + 145 \cdot O_2 = 98 \cdot H_2O + 102 \cdot CO_2.$$

De aquí se deduce que por cada 145 volúmenes de O_2 entrados, hay una emisión de 12 volúmenes de CO_2 : por lo tanto, el cociente respiratorio (C. R.) es $\frac{102}{145} = 0{,}703$. Finalmente, respecto a las proteínas podemos establecer, con LAMBLING, la siguiente ecuación para expresar la combustión de una de ellas, la ovoalbúmina, cuya fórmula naturalmente sólo es aproximada :

$$2 \cdot C_{250}H_{409}N_{67}O_{81}S_3 + 532 \cdot O_2 =$$
$$= 67 \cdot \underset{\text{Urea}}{CON_2H_4} + 6 \cdot H_2SO_4 + 269 \cdot H_2O + 433 \cdot CO_2$$

de donde vemos que C. R. $= \frac{433}{532} = 0{,}814$.

Estas cifras han sido comprobadas por RUBNER, ZUNTZ y LOEWY, etcétera, en animales y en el hombre, y se ha demostrado sin lugar a duda que la alimentación a base de grasas es la que da un C. R. mínimo, alrededor de 0,7 ; la alimentación o base de proteínas conduce a un valor intermedio entre el anterior y los más altos, próximos a 1, que se encuentran en la alimentación hidrocarbonada.

En general, una elevación del C. R. denota que se intensifican en el organismo los procesos oxidantes a expensas de los hidratos de carbono ; una disminución revela un ataque oxidante de las proteínas corpóreas y si el descenso todavía es más acentuado, es señal de que se oxidan las grasas. En la alimentación humana ordinaria, de régimen mixto, se tiene un C. R. alrededor de 0,8-0,85.

d) RACIÓN ALIMENTICIA.

Hablamos de *alimentos simples* cuando queremos indicar las proteínas, los hidratos de carbono y las grasas de la alimentación y, con mayor propiedad todavía, deberemos llamar *verdaderos* alimentos simples a los aminoácidos, la glucosa y los ácidos grasos que son precisamente los materiales combustibles que llegan a la célula y que ésta aprovecha, quemándolos o fijándolos. Hablamos de *alimentos compuestos* cuando queremos indicar las *substancias alimenticias* o *comestibles* tal como nos los presenta el mercado : la carne, el pan, etc., constituídos por proteínas, hidratos de carbono, etc., en proporciones determinadas. Para establecer el valor plástico y dinamógeno de cada alimento compuesto, es necesario conocer su composición centesimal en agua, sales, grasas, hidratos de carbono y proteínas ; en cambio, si sabemos el calor de combustión de cada uno (determinable por calorimetría), podremos averiguar cuanta energía potencial está incluída en ellos, y así combinar un régimen alimenticio que contenga el número de calorías necesarias al organismo.

Como ya hemos dicho, los alimentos simples tienen el siguiente valor calorífico en el organismo :

1 gr. de proteína cede 4,1 calorías (calorías grandes) ;
1 » de hidratos de carbono de 4,1 calorías ;
1 » de grasa proporciona 9,3 calorías.

Es necesario advertir que éstos son valores medios, porque existen pequeñas diferencias de un hidrato de carbono a otro (el almidón da 4,18 calorías ; la glucosa, 3,75) y de una proteína a otra. Por lo que se refiere a las proteínas debe observarse que el valor calorífico real de ellas es bastante superior al asignado, de 4,1 calorías por gramo. Si lo determinamos directamente en la bomba calorimétrica encontraremos que, para las distintas proteínas, oscila entre 5,8 y 5,4 ; pero en el organismo los albuminoides no se queman íntegramente o, mejor dicho, en el metabolismo intermedio de las proteínas están intercalados actos destructivos y actos sintéticos, por lo cual los productos

terminales de este metabolismo (urea, creatina, ácido úrico) no están privados de toda energía potencial, no son como los productos terminales del metabolismo de las otras substancias alimenticias simples, completamente mineralizados (CO_2, H_6), sino que son compuestos orgánicos que tienen todavía un valor calorífico reducido : en efecto 1 gr. de urea da al quemarse 2,55 calorías y 1 gr. de ácido úrico da 2,63. Así, pues, se ha calculado por término medio, que los productos terminales del metabolismo proteico eliminados por la orina, llevan inutilizadas consigo unas 1,5 calorías de las 5,8-5,4 calorías de combustión de los albuminoides y por esto el valor calorífico de éstos se reduce *para el organismo* a un poco más de 4 calorías.

Debe hacerse también una sustracción global a los valores energéticos, expresados en calorías, de los alimentos simples o compuestos : no todo lo que se ingiere es siempre y completamente digerido y absorbido por el tubo digestivo.

Existen efectivamente porciones de los materiales alimenticios que sufren procesos de putrefacción y de fermentación por las bacterias de la flora intestinal y son, por lo tanto, sustraídas a la absorción. También hay una fracción de los alimentos simples que no es atacada por los jugos digestivos porque está incluída en envolturas poco atacables en sí mismas, como los tabiques de celulosa de muchos alimentos vegetales que privan la digestión de los hidratos de carbono y de las proteínas encerrados en las células vegetales : la cocción de las verduras, legumbres, etc., tiene por objeto desprender o romper las envolturas protectoras de celulosa y poner en libre contacto con los jugos digestivos los materiales alimenticios que de otro modo escaparían a ellos.

Todo lo que se ingiere y no es absorbido pasa a las heces y se pierde. Para cada ración media, se calcula *siempre* un cierto tanto por ciento de calorías y de substancias alimenticias que se pierden por esta vía. De ahí la costumbre de hablar de *calorías brutas* para indicar las calorías realmente contenidas en la ración y que pueden ser aprovechadas por el organismo, y de *calorías netas* para designar las que en realidad son utilizadas, y que representan, pues, el verdadero valor nutritivo, descontadas las pérdidas dichas.

Como regla práctica se considera que las calorías brutas de una dieta mixta normal deben superar en un 10 % a las netas ; por lo tanto, que cerca de un 10 % de cada ración no es aprovechado por el organismo. Pero este tanto por ciento perdido por digestión y absorción insuficientes varía mucho según el tipo de alimentación, y así, para no citar más que los albuminoides, de cada 100 gr. de proteína ingerida, no se absorben :

Para la carne (es decir, de cada 100 gr. de proteínas contenidas en la carne)	2,5 gr.
Para los huevos	2,6 »
Para la leche	7,7-12 »
Para el pan blanco	18,7 »

Para el pan moreno (con más salvado, es decir, con envolturas celulósicas poco atacables, que lo protegen de los jugos digestivos) ..	32	gr.
Para las lentejas no trituradas	40	»
Para las patatas	32	»

Se ve que para las patatas, las lentejas y el pan moreno las pérdidas de material ingerido son mucho más considerables que para los huevos y la carne.

Está también demostrado que, del mismo material, por ejemplo legumbres, se pierde por falta de digestión una mayor cantidad si se ingiere entero que si se toma en estado de fina división (purés, harinas, etc.).

Para el pan se discutió si era más ventajoso económicamente utilizar harinas de alto rendimiento, esto es, poco purificadas y por lo tanto con muchas de las masas celulosas de las partes periféricas del grano del cereal, pero al mismo tiempo muy ricas en proteínas, lipoides y vitaminas de las porciones periféricas (cubiertas) o si convenía hacer uso de harinas de rendimiento bajo, esto es, muy tamizadas y despojadas en lo posible de celulosa indigerible (harinas muy refinadas); en resumen, si era preferible el pan moreno o integral o el pan blanco. Las harinas de bajo rendimiento que han sido despojadas de muchos constituyentes vitamínicos y proteicos que se acumulan precisamente en las capas subcorticales (capa aleurónica) del grano del cereal; son, en realidad, más pobres desde el punto de vista nutritivo. Pero, por otra parte, las harinas citadas son mejor digeridas por estar privadas de las envolturas celulósicas, y sus proteínas e hidratos de carbono son mucho mejor digeridos y absorbidos, porque no están protegidos de la acción de los jugos digestivos por las envolturas celulósicas intactas. Además, lo que se pierde de la harina con un refinamiento completo, con rendimiento bajo, queda como salvado, el cual es un alimento excelente para los animales domésticos, como el cerdo, que digieren mucho mejor las cubiertas celulósicas y utilizan los materiales nutritivos en ellas contenidos, que serían perdidos para el hombre. Por lo tanto, parecía a muchos y parece todavía, que conviene emplear en la alimentación humana harinas refinadas, de bajo rendimiento, y emplear para el engorde del ganado los residuos, el salvado, que presenta cosa de un 30 % del valor nutritivo total del cereal. Pero, especialmente durante la última guerra se han emitido opiniones discordantes: se ha hecho notar que los animales domésticos pueden ser cebados con el salvado sustraído al hombre, pero que sólo una parte limitada de su valor nutritivo se encuentra después en su carne y partes comestibles de los mismos, y que, por lo tanto, en tiempos de carestía no es económico servirse del ganado como transformador de materiales alimenticios de bajo valor en materiales más costosos y completos; los animales son, pues, *competidores* no económicos (1) del hombre (el cerdo fué llamado en Alemania el « nuevo enemigo »). Se

(1) MAY, *Berlin, Klin, Woch.*, 1917, n.° 12.

ha creído por consiguiente más útil recurrir a medios mecánicos de moltura más perfeccionados a fin de triturar las envolturas celulósicas de las partes más periféricas del grano de los cereales y hacer el salvado más fácilmente utilizable en el tubo digestivo humano (véase NOORDEN, FISCHER y otros); estos medios mecánicos de liberación de los constituyentes nutritivos de las partes no digeribles se han aplicado también a las legumbres. Así se ha podido reducir la pérdida de materiales ingeridos, aun empleando pan fabricado con harina mezclada con abundante salvado.

Por lo demás, una cierta proporción de celulosa indigerible en la dieta no es del todo inútil: sirve para dar volumen a las heces y estimular el peristaltismo intestinal. Los conejos alimentados con leche, polvo de carne y azúcar mueren pronto y presentan a la autopsia el intestino lleno de heces adherentes, viscosas, como pez, porque la falta de lastre intestinal paraliza las funciones motoras del intestino. En todos los herbívoros de tubo digestivo largo es necesario este lastre y esta excitación mecánica del peristaltismo, producido por la celulosa introducida en gran cantidad, superior a la que el tubo digestivo de estos animales puede digerir, y que probablemente digiere, con la ayuda de la flora microbiana (véase Capítulo siguiente). También en el hombre, de régimen omnívoro, debe necesitarse cierta cantidad de materiales sólidos para regular el desarrollo de las funciones secretoras y motoras del tubo digestivo.

Después de estas consideraciones preliminares, podemos agrupar en la tabla de la página 259 la composición centesimal en proteínas, grasas, hidratos de carbono y sales, así como el valor calorífico (bruto) de algunas de las substancias alimenticias más comunes. Los datos están tomados en su mayoría de la tabla IV de la excelente obrita de BOTTAZZI (1), procedentes en gran parte de las determinaciones de ATWATER y BRYANT. Los valores son aproximados: en realidad hay pequeñas diferencias de composición y de valor calorífico según los distintos autores, porque en los diferentes países son diversos los modos de preparación de los alimentos y substancias alimenticias, el modo de descuartizar los animales, la confección del pan, etc. También ciertas denominaciones no corresponden a las transcritas, según que se trate de autores angloamericanos o alemanes.

Para componer con estas cifras una ración alimenticia, hay que tener en cuenta varios factores importantes: ante todo debe averiguarse cuántas calorías necesita el individuo para el que vamos a instaurar la dieta, teniendo presentes por ahora los datos siguientes, que más adelante encontrarán más amplia explicación: un individuo de mediana edad, de 70 kg. de peso, en reposo completo (inmóvil en la cama) y en ayunas, en un ambiente de 16° de temperatura (que no implique la necesidad de poner en acción los mecanismos termorreguladores) consume, para el trabajo del corazón y de los músculos res-

(1) *Alimentazione dell'uomo*, Giannini, Napoli, 1918.

piratorios, para el de las musculaturas lisas (de los vasos, de la uretra, intestinales) que no cesa nunca, y de las glándulas que segregan de un modo más o menos continuo, etc., cerca de 70 calorías por hora, o sea, en 24 horas, cerca de 70 × 24 = 1680 calorías : éste es el valor del *metabolismo basal (Grundumsatz* de los alemanes ; *dépense de fond* de los autores franceses). Todo *trabajo añadido* y aun la misma *introducción de alimentos* (ésta no solamente en virtud del trabajo muscular y circulatorio, como veremos, sino también por una acción estimulante de los alimentos sobre el metabolismo) así como todo *descenso o elevación considerable de la temperatura del ambiente* que necesite la intervención de la termorregulación, aumentan este metabolismo basal en una cierta cantidad de calorías por cada nuevo aumento de trabajo. Un hombre adulto puede, pues, necesitar cerca de 2000 calorías diarias (individuo *en la cama*, por lo tanto en reposo, pero no tan rigurosamente aislado como en los experimentos de determinación del metabolismo basal y *alimentándose)* ; hasta 3500-5000 y más calorías si hace un trabajo muscular intenso. ATWATER ha podido observar una producción total de 9300 calorías en un sujeto que accionaba una bicicleta el cual habría sacado del valor calórico de los alimentos, el necesario para subvenir a este trabajo. Prescindiendo, sin embargo, de estos casos extremos, el hombre medio necesita 3200-3400 calorías aproximadamente para un trabajo ligero, y unas 4000-5000 para un trabajo más fuerte (un trabajo medio de cerca de 50 000 kilográmetros = calorías aproximadamente). Así, para los ejércitos en tiempo de guerra, la Comisión internacional para la alimentación había establecido las siguientes cifras diarias :

Soldado en guarnición (trabajo ligero)	3300	calorías (brutas)
Soldado en campaña	3900	» »
Soldado en operaciones en la montaña (en invierno) ..	4100	» »

Establecidas así las exigencias caloríficas totales diarias, debemos combinar la ración teniendo presente la necesidad de un *aporte proteico mínimo*, por las razones ya explicadas en parte. La determinación de ésta no es fácil. En efecto, si tenemos un animal en ayuno completo, vemos que mientras vive continúa eliminando nitrógeno por la orina y por las heces, señal de que continúa la desintegración proteica en el seno de los tejidos, que prosiguen las secreciones intestinales, etc. Pero la cifra de N perdido de esta manera no corresponde del todo al verdadero aporte mínimo de N (y por lo tanto de proteínas) sino que lo sobrepasan más o menos. El organismo en ayunas, aun en reposo, continúa perdiendo calor y desarrollando un trabajo mecánico aunque no sea más que el de la circulación sanguínea, y para tal objeto ataca y quema sus propios tejidos por lo cual una parte importante de la pérdida de N (urinario) es debida al cumplimiento de esta exigencia energética, y sobrepasa pues la estricta necesidad de restauración de las proteínas gastadas. Para tener una idea clara del valor de la llamada *cuota de desgaste (Abnutzungsquote* de los alemanes), o

Composición aproximada y valor calorífico de algunas substancias alimenticias

SUBSTANCIAS ALIMENTICIAS	Para 100 gramos de comestible				
	proteínas	grasas	hidratos de carbono	cenizas	valor calorífico
	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.
Lomo magro de buey	19,1	12,1	—	1	198
Lomo graso	17	26,2	—	0,9	323
Costilla de buey	17	25,3	—	0,7	315
Muslo de buey, magro	20,7	7,5	—	1,1	162
Hígado de buey	20,4	4,3	1,7	1,2	1364
Carne de buey hervida, en lata	24,7	21,4	—	1	311
Lomo de ternera	19,3	10,3	—	0,8	183
Cordero fresco (según los pedazos)	17-18,5	18-28	—	0,8	255-344
Cerdo fresco : lomo, brazuelo	16,1	28,6	—	0,8	342
Cerdo fresco, asado	19,3	43,1	—	1,7	494
Jamón	15,8	36,9	—	3,6	419
Salchichas de cerdo	12,6	42	1,1	1,7	558
Gallina	18,7	15,5	—	0,8	229
Bacalao fresco	10,8	0,2	—	0,6	50
Trucha	17,3	9,8	—	0,9	168
Bacalao salado sin huesos	24,9	0,3	—	14,3	112
Arenques ahumados	35,8	15	—	9,9	299
Huevos crudos (1)	13	10	—	0,8	143
Leche de vaca	3,2	3,8	5	0,5	68
Quesos	25,1	32,0	2,4	2,0	415
Mantequilla	1	80,8	—	2,3	751
Manteca de cerdo	—	95,0	—	—	877
Maíz, harina	7,5	1,7	73,5	0,8	357
Cebada mondada	6,7	1,0	76,1	0,8	359
Avena, harina	13,4	6,6	65,2	1,4	395
Arroz	6,5	0,3	76,9	0,3	354
Arroz hervido	2,3	0,1	23,8	0,2	111
Harina de trigo, integral	10,7	1,7	70,9	0,8	362
Harina de alto rendimiento	10,9	1,7	70,2	0,7	360
Harina de bajo rendimiento	8,7	0,9	73,6	0,4	356
Pastas para sopa	9,4-9,1	0,4-0,9	74-75	0,5-0,8	360
Pan integral	7,5	0,8	49,1	1	248
Pan blanco	7,1	1,2	52,3	0,8	263
Panecillos	8,9	1,4	6,03	1,3	306
Azúcar	—	—	100	—	394
Habichuelas tiernas	1,7	0,3	7,2	0,6	40
Habichuelas blancas, secas	15,8	1,6	59,9	2,6	337
Acelgas tiernas	1,2	0,1	9,4	0,8	45
Coles	1,2	0,3	5,5	0,8	31
Zanahorias tiernas	0,7	0,4	8,9	0,8	44
Lechuga	0,9	0,3	2,9	0,7	19
Guisantes tiernos	5,2	0,5	16,7	0,8	95
Guisantes secos	17,3	0,9	62,5	2,2	332
Guisantes verdes cocidos con mantequilla	5,1	3,1	14,4	1,1	108
Patatas	1,7	0,1	17,7	0,8	82
Espinacas tiernas	1,6	0,3	3,2	1,6	22
Espinacas cocidas con mantequilla	1,6	3,7	2,7	1,1	52
Tomates	0,7	0,4	3,8	0,4	22
Nabos	1,0	0,2	7,8	0,6	38
Manzanas	0,3	0,5	12,8	0,2	57
Plátanos	1	0,5	19,9	0,6	88
Higos	1,2	—	17	0,5	73
Uvas	1,1	1,4	17,3	0,4	86
Otras frutas frescas	0,5-1,4	0,2-0,9	6-18	0,3-0,5	35-70
Higos secos	3,4	0,3	67	1,8	284
Uvas secas	2,0	3,0	68,7	2,6	310
Almendras	17,8	49,4	15,6	1,5	591
Avellanas	13,3	58,8	11,7	1,8	645

(1) Un par de huevos grandes representa aproximadamente 100 gr. de substancia alimenticia (clara y yema). Un huevo contiene unos 33-34 gr. de clara y 17-18 de yema ; en total da unas 74-76 calorías.

sea del verdadero mínimo proteico fisiológico, es necesario tener un organismo en *ayuno proteico*, suministrándole sin embargo una cantidad de grasas e hidratos de carbono que sea suficiente para cubrir sus necesidades energéticas imprescindibles.

Tampoco es indiferente dar sólo grasas o únicamente hidratos de carbono : un sujeto adulto de unos 68-70 kg., que al tercer día de ayuno total eliminaba 7-8 gr. de N urinario (correspondiente a cerca de 43-50 gr. de proteínas corpóreas desgastadas), puesto a ayuno proteico con hidratos de carbono y un poco de alcohol, eliminaba al cuarto día y en los sucesivos 3-4 gr. de N (correspondientes a un desgaste de 20-25 gr. de albuminoides del organismo) ; por el contrario, puesto a ayuno proteico con grasas y un poco de alcohol, todavía eliminaba al quinto día 5,71 gr. de N (correspondientes a $5{,}71 \times 6{,}25 = 35{,}68$ de proteínas corpóreas desgastadas), según experiencias fundamentales de LANDERGREN.

En un caso de ayuno proteico con suministro de hidratos de carbono, THOMAS pudo encontrar al onceavo día que la eliminación de N urinario estaba reducida a 2,2 gr. y la de N fecal a 0,6 gr., datos que correspondían a una pérdida total de N de 2,8 gr., equivalentes a $2{,}8 \times 6{,}25 = 17{,}50$ gr. de proteína desintegrada.

El verdadero « *minimum teórico* », la verdadera cuota de desgaste sería la cantidad de proteína que el organismo consume de sus propios tejidos durante el ayuno proteico con suministro de hidratos de carbono, de manera que satisfaga todas las necesidades energéticas. En efecto, en estas condiciones experimentales es cuando se obtiene el valor mínimo de las pérdidas proteicas, por lo cual se ha dicho que *los hidratos de carbono son ahorradores de proteínas*. Las grasas no cumplen tan bién esta función de ahorro y de subvención de las puras necesidades energéticas por varias razones, una de las cuales es que, cuando se da una dieta de grasas solas, parte de las proteínas corpóreas deben servir para proporcionar la cantidad de azúcar necesaria a la sangre (1).

Para ser exactos debemos decir que en la cuota de desgaste se incluyen las proteínas perdidas por la descamación epidérmica, por los pelos que caen, uñas que se gastan, las pérdidas debidas a las emisiones de esperma, de sangre menstrual, etc. Podemos, pues, precisar los sumandos que integran la cuota proteica de desgaste, de la manera siguiente :

1.° Consumo de las proteínas celulares en los procesos vitales : microscópicamente podemos formarnos una idea de este desgaste celular en los procesos de envejecimiento y muerte de las células de los tejidos lábiles (órganos hematopoyéticos, epitelios de revestimiento, etc.) pero también las células de los tejidos de elementos perennes (sistema nervioso central, músculos estriados) presentan fenómenos continuos de desintegración, como lo demuestra el acúmulo de materiales demostrable histológicamente, tales como los llamados *pigmentos de consumo*. Aun no siendo el protoplasma viviente un edificio tan inestable como se creía cuando se sostenía la doctrina de la molécula-biógena, sino que posee una trama relativamente fija, los fenómenos de desgaste son incesantes.

(1) LANDERGREN, *Skand. Arch. f. Physiol.*, vol. XIV, 1903.

2.° Pérdida de escamas periféricas, pelos, uñas, etc. (en su mayoría substancias proteicas) ; a veces de sangre (menstruación) o de esperma.

3.° Secreción de jugos digestivos que contienen cuerpos nitrogenados, los cuales son reabsorbidos en parte en el intestino, pero en parte se eliminan con las heces o son reabsorbidos después de sufrir alteraciones debidas a procesos bacterianos, por lo cual pierden la aptitud para su ulterior utilización y son eliminados por la orina.

4.° Probablemente la formación de ciertas hormonas o reguladores, que son diversamente utilizados y *quizás* inactivados por efecto de su empleo, por lo cual deben ser reconstruídos a medida que se destruyen.

La mayor parte de las pérdidas por estas varias causas constituyen el nitrógeno urinario (pérdidas del 1.° y del 3.° grupos y quizás del 4.°) y el nitrógeno de las heces (la mayoría de las pérdidas por la causa dicha en el apartado 3.°) ; quedan las pérdidas del 2.° que son de poca importancia en las condiciones y duración de los experimentos y que en rigor tendrían que ser sumadas con el N urinario y fecal del sujeto sometido al ayuno proteico con ingestión abundante de hidratos de carbono.

Parece, pues, que la administración de esta cuota mínima teórica, por ejemplo de 17,5 gr. de proteínas en el experimento citado de THOMAS, debe bastar para cubrir las necesidades proteicas. Pero no es así por dos razones : una, ya indicada y sobre la que insistiremos, es que la misma ingestión de los alimentos y especialmente de proteínas aumenta la intensidad de los cambios nutritivos *(acción dinámica específica* de la alimentación) ; la otra, que los albuminoides alimenticios no pueden cubrir exactamente las pérdidas de proteínas corpóreas, porque no tienen la misma composición. También sobre esta segunda razón insistiremos al tratar de la dieta incompleta desde el punto de vista cualitativo : entonces veremos que más que un *mínimum* de proteínas en la dieta, lo que se necesita es un *mínimum* de aminoácidos, y que los albuminoides alimenticios no son más que proveedores de aminoácidos con los que las células deben fabricar sus propias proteínas. Pero las proteínas alimenticias si no son homólogas (como en los casos de canibalismo, no raros en las especies animales), son más o menos extrañas al organismo y divergen más o menos de las corpóreas por el número y clase de los aminoácidos que contienen, por sus proporciones y por el modo como están agrupados. Por lo tanto, el alimento deberá contener, en general, una cantidad tanto mayor de proteínas cuanto más diversas sean éstas de las corpóreas por su composición ; hay proteínas del todo insuficientes para mantener el

equilibrio nitrogenado porque carecen de uno o más aminoácidos esenciales, por lo cual no existe para ellas un mínimo útil.

El *mínimo higiénico* debe ser, por lo tanto, un poco mayor que los 20 gr. de proteína de la cuota de desgaste determinada por el ayuno proteico con hidratos de carbono. En general, es más alto para los regímenes vegetales que para los animales, por ser las proteínas vegetales más distintas en composición de las del cuerpo humano, que las de otras especies zoológicas (1).

La escuela de C. Voit fijaba en 118 gr. por día la cuota proteica higiénica para el hombre adulto sometido a una vida y un trabajo normales.

Recientemente el médico danés Hindhede y la escuela de Chittenden, fisiólogo americano, han defendido las cuotas proteicas *reducidas*. Chittenden (que ha estudiado también los trabajos de Fletcher, propulsor de la teoría de la alimentación reducida con masticación prolongada de los alimentos), ha sostenido que, con reducciones metódicas, se llega a habituar al organismo a cantidades cotidianas de proteína muy inferiores a las que antes se consideraban necesarias. Así como según las exigencias de Voit se necesitaría como mínimo higiénico cosa de 1,6-1,7 gr. de proteína por kilogramo de peso corporal, Chittenden dice haber conseguido mantener un equilibrio perfecto del N, o sea la compensación perfecta de las pérdidas de N, con 0,75-0,80 gr. de proteínas por kilogramo de peso corporal (al día). Hindhede sostiene aún raciones proteicas menores, de 0,5 gr. por kilogramo de peso corporal y hasta menos (con 30 gr. al día de proteínas, habría mantenido a la par, el equilibrio de su propio metabolismo nitrogenado) y, en cierto modo, rehabilita también los albuminoides vegetales (de las patatas o del pan), aun cuando prefiera una mezcla constituída aproximadamente por $^1/_3$ de proteína animal y $^2/_3$ de albuminoides vegetales.

El criterio intermedio es quizás el razonable : para un hombre a régimen *mixto*, libremente escogido, se deben calcular como necesarios al menos 80 gr. de proteína al día, o sea un poco más de 1 gr. de proteína por kilogramo de peso.

Existen probablemente grandes diferencias individuales y esto puede explicar las contradicciones de tantos observadores autorizados. Puede suceder que algunos fisiólogos americanos hayan experimentado con individuos de bajo metabolismo basal, con sujetos con diátesis gotosa o tendencia a formas endógenas de polisarcia, con estados

(1) Parece que también para las proteínas homólogas (perro alimentado con carne de perro) el *mínimum* fisiológico supera siempre un poco la cuota teórica de consumo, quizás porque en el desgaste protoplasmático participan tejidos distintos y diferenciados, y las proteínas alimenticias, aun las homólogas, proceden de un tejido determinado (carne muscular) y no tienen igual composición que algunas de las proteínas celulares que deben sustituir.

Recordemos las cifras de la cuota mínima de desgaste en ciertos casos patológicos : Grafe (*Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. LXV, pág. 21, 1910) comprobó en un catatónico que durante la dieta de azúcar sólo eliminaba por día 1,057 gr. de N, que corresponden a menos de 7 gr. de proteína.

progresivos de hipernutrición y especialmente de hipernutrición cárnea, como es frecuente en aquellos países de costumbres alimenticias ricas y refinadas. Las bajas cuotas proteicas que han sido consideradas como suficientes podrían representar, pues, valores no del todo normales, sino casi diríamos curativos, para sujetos no del todo fisiológicos. Las cifras proteicas demasiado bajas en la alimentación de las clases populares dejan poco margen para las necesidades imprevistas; en efecto, actualmente ya no se niega un cierto almacenamiento de las proteínas, esto es, la formación de depósitos proteicos aunque sean limitados y una ración que apenas es suficiente para cubrir las necesidades del consumo, suprime las ventajas de este almacenamiento, no despreciable probablemente para la resistencia a las infecciones. Además, la albúmina tiene, en mayor grado que los hidratos de carbono (y éstos más que las grasas) una función excitadora del metabolismo, una acción dinámica específica de la que ya hablaremos : tiene quizás, como dice brillantemente Bottazzi : « un valor análogo al que para encender una estufa se atribuye a las astillas bien secas respecto al carbón de cok ». Las proteínas que exceden de la cuota mínima pueden servir también para mantener el estado *eucoloidal* de los líquidos orgánicos, tan importante para muchas funciones, y para conservar en dichos líquidos una concentración suficiente de aminoácidos que impidan, por la acción de su masa, las excesivas desintegraciones albuminoideas en los tejidos.

Se observa que, si se administra una cantidad de proteínas mayor que la necesaria para cubrir las pérdidas nitrogenadas, el exceso de proteínas es desintegrado, y su nitrógeno pasa completamente a las excreciones ; por esto algunos fisiólogos han hablado de *consumo de lujo*, en tales casos. Pero no existe un verdadero consumo de lujo en tal sentido : los aminoácidos sobrantes son desaminados, como veremos al hablar del metabolismo intermedio, y con el grupo amínico el hígado forma urea que es eliminada, mientras que la cadena de carbono residual del aminoácido es quemada para las necesidades energéticas o transformada en hidrato de carbono y quizás también en grasa. El derroche sólo se refiere, en cierto modo, al N, que es eliminado como urea, sin haber servido para la reparación orgánica, pero no sucede así con el resto de la molécula de los aminoácidos. Puede existir un despilfarro económico si la ración alimenticia contiene demasiadas proteínas, alimento costoso, gran parte del cual sirve entonces para fines exclusivamente dinamógenos, que podrían ser excelentemente satisfechos con hidratos de carbono y grasas, especialmente con los primeros, mucho menos costosos. También puede ser perjudicial al organismo el consumo de un exceso de proteínas, por otras razones : las proteínas sobreabundantes pueden sufrir, en el tubo digestivo, procesos de putrefacción, con formación de compuestos tóxicos (aminas) ; pueden favorecer el desarrollo de bacterias patógenas ; pueden determinar, si son proteínas animales (carne) de cenizas ácidas, una excesiva introducción de ácidos en el organismo. En efecto, éstos son los

inconvenientes de un régimen proteico *excesivo* (que es casi siempre un régimen *cárneo)* conocidos de todo médico. El hombre difícilmente puede digerir más de 180-200 gr. de proteínas al día ; las cifras tales como 380 gr. se refieren a casos de verdadera rareza. Pero como aun estas cifras máximas de albuminoides utilizables por el tubo digestivo humano no dan más que 800-1000 o pocas calorías más, resulta de esto que el hombre no puede cubrir sus necesidades energéticas solamente con proteínas. Es probable que esto sea posible para los carnívoros, dado su poder digestivo más potente respecto a las proteínas alimenticias.

En cuanto a los otros componentes orgánicos del régimen puede aplicárseles lo dicho al tratar de las leyes de la isodinamia y del mínimo. Parece indispensable también una pequeña cantidad de grasas, porque las grasas producen 9,3 calorías por gramo y son, pues, el alimento que encierra un valor calorífico más alto en un mínimo de volumen ; son, por lo tanto, de mucha utilidad cuando el aporte calorífico debe ser elevado (frío intenso, fuerte trabajo muscular, etc.) y no puede aumentarse exageradamente el volumen total de la dieta ; también parece necesario que estén representados los hidratos de carbono en un régimen bien equilibrado. Una cantidad notable, la mayor, del valor calorífico total de una ración debe ser cubierta, pues, con hidratos de carbono, que con facilidad y prontitud proporcionan el combustible más fácilmente utilizable (glucosa) a las células, de tal modo, que una cierta cantidad mínima de glucosa en el ambiente celular y por lo tanto en la sangre, es una de las condiciones esenciales para la vida. Anticipemos por ahora esta noción fundamental : el hambre de hidratos de carbono produce la aparición de una cantidad de cuerpos acetónicos en la sangre y en la orina, que desaparecen tan pronto como se administran nuevamente hidratos de carbono. Finalmente, ya se ha dicho que con ayuno proteico y la sola ingestión de grasas la escisión de las proteínas de los tejidos es mayor que cuando suprimiendo los albuminoides del régimen, se dan sólo hidratos de carbono, y ya se ha insinuado la acción de ahorro que tienen éstos para las proteínas. Esta acción de ahorro se encuentra también cuando se administra una ración que contenga los tres tipos de alimentos simples : si el organismo se encuentra en equilibrio de nitrógeno con una cantidad dada de proteína alimenticia, sustituyendo repentinamente los hidratos de carbono por una cantidad térmicamente igual de grasa, la misma cantidad de proteína no basta ya para mantener a la par el equilibrio nitrogenado, como si la falta de hidratos de carbono hubiese elevado la cuota proteica mínima necesaria.

Después de estas consideraciones, he aquí algunas raciones que han dado excelente resultado, compuestas conforme a la *libre elección* de los individuos.

Según Armand Gautier (1) :

	Proteínas	Grasas	Hidratos de carbono
Hombre sometido a un trabajo intenso	152	85	630
Operario que realiza una labor muy fatigosa .	191	132	811

(1) Cit. por Lambling, *Précis de Biochimie*, 1921.

Según Rubner :

	Proteínas	Grasas	Hidratos de carbono	Val. calor totales
	gr.	gr.	gr.	cal.
Médicos jóvenes.....	125	86	296	2713
Artesanos, como carpinteros, etc..	124	54	497	2053
Operarios que realizan un trabajo intenso.....	170	71	567	3632
Mineros	156	108	766	4776
Leñadores	123	258	783	6086

Obsérvese que con el aumento de las exigencias impuestas por el trabajo muscular crece el aporte energético total ; al principio crecen también las cantidades de proteínas, pero proporcionalmente *menos* que el valor calorífico total y luego vuelven a descender, mientras que el valor proporcional y también absoluto de los hidratos de carbono va creciendo siempre. En resumen : por su solo instinto, el trabajador que debe aumentar su rendimiento mecánico, aumenta poco la cuota proteica y hasta, para altos rendimientos, la reduce un poco, mientras que eleva la cantidad de hidratos de carbono, el combustible más inmediato y más fácilmente utilizable, además de ser el más económico.

Para las grasas se advierte que las clases acomodadas (médicos) consumen más que los artesanos, pero que al aumentar el rendimiento muscular el operario también aumenta notablemente su empleo, quizás porque no puede aumentar demasiado la cantidad de hidratos de carbono, ya muy crecida, para no encontrarse con una ración demasiado voluminosa en relación con las dimensiones del tubo digestivo humano.

En conclusión : una buena ración debe proporcionar un 15-25 % de las calorías totales en forma de proteínas; cerca de otro 20-25 % en forma de grasas y el resto — la mitad, pues, o poco más de las calorías totales — en forma de hidratos de carbono. En cuanto a las necesidades de substancias minerales, véase la parte correspondiente a la alimentación incompleta. El *alcohol* se quema casi totalmente (hasta el 98 % a pequeñas dosis y diluído) en el organismo, y al quemarse desarrolla la energía potencial contenida en él (cerca de 7 calorías por gramo) ; actualmente parece admitido que puede sustituir a una cantidad térmicamente equivalente de otros elementos. Puede, pues, obrar como alimento de ahorro, con tal que no se llegue a dosis tóxicas ; estas últimas, por el contrario, tienen una acción desintegradora sobre las proteínas corpóreas, por lo cual un organismo con equilibrio de N a la par, parece que puede ser puesto en *déficit* por la ingestión de alcohol a dosis elevadas. Sin embargo, la dosis activa en este sentido, es decir, aquella que al ser alcanzada sustituye la acción de ahorro del alcohol respecto a las grasas e hidratos de carbono por los efectos tóxicos que provocan un aumento de la disgregación proteica, varía según los individuos y también según que estén más o menos habituados a esta bebida. En efecto, los habituados destruyen más rápidamente el alcohol que ingieren. También el trabajo muscular intenso

acelera la combustión del alcohol y su desaparición de la sangre y de los tejidos, de donde la menor toxicidad de las bebidas alcohólicas en los trabajadores manuales que en los individuos de vida sedentaria.

El alcohol a pequeñas dosis tomado con las comidas en forma exclusiva de vino o cerveza, no es dañino para el adulto sano ; quizás es favorable por su acción estimulante de la secreción gástrica y, si se trata de vino o cerveza, puede contribuir a una ligera aportación de vitaminas, de sales (el vino es rico en Ca) de hidratos de carbono (cerveza, vinos dulces) de lecitina (en el vino), etc.

Citemos solamente los llamados alimentos nervinos, como el té, café, etc., que no tienen ningún valor energético, sino que solamente actúan de estimulantes de las secreciones digestivas, como excitantes del sistema nervioso central o aboliendo las penosas sensaciones de hambre, etc. El té y el café contienen xantina metilada, éste es un hecho que debe conocer el médico para tenerlo en cuenta cuando se trate del aporte de purinas por ciertos sujetos.

e) ALIMENTACIÓN DEL ORGANISMO EN VÍAS DE DESARROLLO. LA LECHE.

La *leche*, que consideramos aquí desde el punto de vista puramente alimenticio, tiene la siguiente composición centesimal en distintos animales :

	Agua	Residuo seco	Proteínas	Grasa	Azúcar	Cenizas
Mujer	87,58	12,42	2,01	3,74	6,37	0,30
Vaca	87,80	12,20	3,40	3,40	4,70	0,75
Cabra	86,30	13,70	4,60	4,00	4,30	0,80
Oveja	81,50	18,50	5,60	7,00	5,00	0,90
Burra	90,12	9,88	1,85	1,37	6,19	0,47
Perra	77,00	23,00	9,72	9,26	3,11	0,91
Ballena	—	—	9,50	19,40	—	1,0
Calostro (vaca)	74,67	25,33	17,64	3,59	2,67	1,56

Recordemos que las proteínas de la leche son : la *caseína* (una fosfoproteína), contenida en combinación compleja con sales de Ca y que los ingleses llaman *caseinógeno*, reservando el nombre de caseína para el derivado cálcico insoluble (queso) que precipita por la acción del fermento lab del estómago, o *cuajo*, sobre la leche ; una *lactalbúmina* y una *lactoglobulina*.

En la leche, según VIALE (1), se encuentran por término medio 8,6 mgr. de nitrógeno amínico por ciento ; los aminoácidos correspondientes (triptófano, cistina) serían directamente producidos por la glándula y no secundariamente por acciones enzimáticas o bacterianas. La presencia de estos aminoácidos tiene gran interés por el gran valor

(1) *Bioch. e Ter. sper.*, año VIII, fasc. 11, 1921.

biológico que dichos compuestos poseen para el organismo que debe construir sus proteínas.

La lactalbúmina de la leche de mujer está, en relación a la caseína, como 1 : 1, esto es, que existe igual cantidad de una y otra, mientras que en la leche de vaca la relación es de 1 parte de lactalbúmina por 6 de caseína. Esta es una diferencia que debe tenerse muy presente porque la lactalbúmina tiene un valor nutritivo elevadísimo, por ser muy rica en lisina, aminoácido que parece indispensable para el crecimiento (véase la parte correspondiente a la alimentación incompleta). La diferente composición de la cuota proteica en las dos leches, explica el diverso aspecto de sus coágulos en el estómago : espeso y sólido el de leche de vaca ; fino, ligero y muy dividido el de leche de mujer. También al ultramicroscopio se observa diversidad entre el suero de leche humana y el de vaca : en el segundo, las micelas son mucho más grandes que en el primero. La leche de mujer contiene también un cuerpo proteico mal definido, llamado *opalisina*. Debe notarse que la leche de mujer es más alcalina que la de vaca. Además, la leche de mujer (y de burra) contiene mucha más lactosa (principal hidrato de carbono de la leche, a la cual acompañan indicios de glucosa y una dextrina) que la de vaca ; diferencia ésta muy notable en varios sentidos, porque la lactosa contiene la molécula de la galactosa, una hexosa ampliamente contenida en ciertos lipoides del sistema nervioso central (cerebrósidos). La naturaleza procuraría asegurar una provisión de galactosa al organismo durante el período de la vida en el cual, por la gran mielinización de importantes vías nerviosas, es probablemente abundante la síntesis de lipoides y por lo tanto hay gran necesidad de la hexosa específica ; pero es necesario no apresurarse a admitir explicaciones de apariencia brillante para ciertas composiciones bioquímicas. En realidad, una mayor riqueza en lactosa no siempre está en relación con el mayor desarrollo del sistema nervioso, como se ve en la tabla anterior en la que, a la vez que la leche humana (para la cual la explicación encontraría una justificación completa), se ve que la leche de burra también es muy rica en lactosa, cuando precisamente el asno no se caracteriza por un gran desarrollo nervioso, como el hombre. Y por otra parte para algunos mamíferos se ha encontrado una riqueza escasa en lactosa, a pesar de alcanzar un buen desarrollo cerebral.

La grasa de la leche, en forma de finísima emulsión (gotitas pequeñas con envoltura proteica) comunica opacidad a esta secreción. Contiene ácidos grasos diversos : esteárico, palmítico, oleico, miristico, algunos ácidos grasos inferiores (butírico (1), caproico, etc.) unidos con

(1) Según investigaciones recientes, en la grasa de la leche (mantequilla) muy fresca no existiría ácido butírico preformado, sino que éste se formaría del ácido glutámico de la caseína, por acción bacteriana. La mantequilla contiene siempre un residuo de las proteínas de la leche, y por lo tanto también caseína, y esto explicaría que siempre contenga ácido butírico. El triglicérido de este ácido o tributirina no es, pues, un componente normal de la leche.

la glicerina en forma de triglicéridos. Por los demás, la composición de la grasa varía con la alimentación (también las grasas yodadas, administradas por la boca, pasan a la leche) ; éste es el componente cualitativamente más fácil de influenciar con la dieta del animal lactífero. La grasa de la leche de vaca constituye la *mantequilla*.

La leche contiene fosfátidos (0,06 %), colesterina, un poco de ácido cítrico, varios fermentos, como el que da la reacción de SCHARDINGER (véase la parte correspondiente a las oxidaciones intraorgánicas) y *peroxidasas* (1). Contiene las tres vitaminas conocidas. Entre los componentes minerales hallamos el K (más abundante que el Na), el Ca, Mg, P (fosfátidos) y el Fe (escaso).

He aquí los valores de la cantidad de substancias minerales contenidas en una leche de vaca, según LANGSTEIN y MEYER (2) :

K	1,88 gr.
Na	0,46 »
Cal	1,72 »
Magnesia	0,07 »
Oxido de hierro	0,0[illegible]04-0,0[illegible]07 gr.
Acido fosfórico	2,06-2,4 gr.
Cl	0,82 gr.

Según BORRINO (3), que ha hecho experimentos de ultrafiltración de la leche, el Ca y el P se encuentran en ella por lo menos en dos formas : una soluble y cristaloide ; la otra, no disociada, coloide, unida a las proteínas (caseína) formando un verdadero hidrosol protegido por la presencia de las proteínas y retenida por éstas en la ultrafiltración. En la leche de mujer, la cantidad de Ca y de P no unidos orgánicamente y ionizados es proporcionalmente mayor que en la de vaca.

El calostro es más rico en lactalbúmina, por lo cual coagula por la ebullición, cosa que nunca hace la leche fresca ; contiene menos lactosa que la leche y no coagula con el cuajo.

El peso específico de la leche de vaca es de 1028-1035 ; crece un poco por el reposo (por lo cual no debe determinarse antes de pasadas 5 horas del ordeño). La leche descremada, privada de la grasa (o mantequilla), tiene un peso específico de 1033-1037. La leche es una verdadera *secreción*, cuyos componentes específicos son la caseína y la lactosa.

Por el párrafo *f)* del Capítulo VII de la Parte I, en donde hemos hablado de la caseína en particular, sabemos que ésta puede precipitar por acidificación de la leche, y efectivamente la leche, acidulada por el desarrollo de ácido láctico por la acción de los gérmenes de la

(1) La presencia de estos fermentos, termolábiles, sirve para la comprobación de que la leche no ha sido hervida. El método más usado es el que se basa en la presencia de peroxidasas, o sea, la reacción con la tintura de guayaco : añadiendo a la leche, no hervida y fresca, un poco de tintura de guayaco y algo de H_2O_2 (es mejor sustituir el H_2O_2 por esencia de trementina vieja, que contiene varios peróxidos), se obtiene al cabo de algún tiempo un color azul, por oxidación de la tintura.

(2) *Säuglingsernährung*, Berlín, 1914.

(3) *Bioch. e Terap. sper.*, vol. IV, 1914 ; vol. V, 1915.

fermentación láctica que atacan a la lactosa, coagula, por separación de la caseína, aun en frío. Esta separación de la caseína por acidificación es más difícil en la leche humana que en la de vaca, quizás porque la primera es más alcalina y quizás también porque contiene más albúmina respecto a la caseína, que puede tener hasta cierto punto una acción protectora. Añadiremos a la exposición que estamos haciendo de las propiedades alimenticias de la leche, que *la verdadera coagulación de ésta por acción enzimática* nada tiene que ver con la precipitación de la caseína por el ácido acético u otro ácido.

La verdadera coagulación enzimática de la leche es un proceso mucho más complejo : en el fondo se trata de hechos de escisión hidrolítica de la *caseína (caseinógeno* de los ingleses) en cuerpos más sencillos, siempre de naturaleza proteica, que son las *paracaseínas (caseína* de los ingleses) y las *albumosas* del *suero*.

El fermento activo es especialmente la *zimasa*, *zimosina* o *fermento-lab* de la mucosa gástrica. También otros fermentos proteolíticos, como la tripsina del jugo pancreático y ciertos fermentos vegetales, pueden producir este fenómeno de escisión inicial de la caseína, por lo cual se ha supuesto (PAVLOW) que el fermento activo del estómago no es más que la pepsina, por lo tanto la bien conocida proteasa gástrica y no un fermento especial. Con todo, actualmente la mayoría admite que estos fermentos proteolíticos pueden dar lugar después a la transformación de la caseína en derivados del tipo de la paracaseína, pero que el estómago, especialmente en los animales jóvenes (lactantes) contiene además un fermento particularmente a propósito para producir esta escisión de la caseína. Un argumento, citado a favor de la distinción entre la zimasa y la pepsina, es que aquélla actúa en reacción neutra o apenas ácida, mientras que ésta obra en líquidos de reacción mucho más ácida. Generalmente, en la producción industrial del queso, se emplea el *cuajo* o *renina*, un extracto de la mucosa gástrica de terneras en período de lactación.

Las *paracaseínas* (es mejor emplear el plural, porque se trata probablemente de varios cuerpos, quizás de diversos grados de escisión de la caseína original) forman, como ácidos, sales solubles con los metales alcalinos (Na, K), pero que son más fácilmente precipitables por las sales neutras que las análogas de la caseína. Las soluciones de paracaseinato sódico tienen una viscosidad menor que las soluciones de caseinato sódico, lo cual prueba la mayor dispersión coloidal y la mayor pequeñez de las moléculas de paracaseína comparadas con las de caseína ; esto confirma la naturaleza desintegrativa del proceso por el cual de la caseína se pasa a paracaseína. Son particularmente importantes las relaciones entre las paracaseínas y las sales de calcio : en efecto, mientras la caseína de la leche se encuentra en combinación con las sales de Ca y el complejo resultante, que quizás podríamos llamar *caseinato cálcico*, es soluble, las paracaseínas forman fácilmente con las sales de Ca, abundantes en la leche, un complejo insoluble, un *paracaseinato cálcico*, que precipita y constituye el queso o cuajo.

La verdadera acción enzimática — de naturaleza proteolítica — consiste en la escisión de la caseína en paracaseínas. La precipitación, la que resalta en nuestra observación, es un acto consecutivo, que se desarrolla si existen en el medio sales de Ca o de otros metales alcalinotérreos ; no se verifica si existen condiciones especiales que impiden la precipitación, como por ejemplo, no se produce en el calostro, porque la lactalbúmina abundante actúa como coloide protector. La coagulación — o sea, la precipitación del complejo constituído por las paracaseínas con las sales de Ca — se verifica bruscamente, después de una especie de período de lactancia, debida a la acción procectiva de la misma caseína todavía no atacada. Una ligera elevación de la temperatura facilita la formación del coágulo.

La leche hervida no coagula con el cuajo (no forma queso) porque las sales solubles de Ca (bicarbonato y fosfato ácido de cal) se han transformado en sales insolubles (carbonatos y fosfatos neutros) que no pueden ya reaccionar con la paracaseína. La leche hervida vuelve a hacerse coagulable por el cuajo si se añade un poco de una sal soluble de Ca (cloruro) o si se acidula ligeramente.

En la escisión de la caseína en paracaseínas se forman, como estados consecutivos de división proteolítica o como productos colaterales, unos cuerpos, también de naturaleza proteica, pero más sencillos, del tipo de las proteosas o albumosas : son las *albumosas del suero de la leche*, llamadas así porque se encuentran en el *suero*, esto es, en el líquido que queda después de la coagulación, el cual puede exprimirse del coágulo o queso y contiene las otras peoteínas, la lactosa, las sales (la grasa generalmente queda en su mayor parte aprisionada en el queso, pero comúnmente se somete a la caseificación la leche descremada, esto es, privada de la grasa o mantequilla). Estas albumosas del suero carecen de P, son incoagulables por los ácidos y también por la ebullición ; precipitan con alcohol absoluto, pero no con sublimado ni con ferrocianuro de K y ácido acético. Algunos suponen que la escisión hidrolítica de la caseína por el fermento-lab da paracaseína + albúmina ; otros piensan que las albumosas son un producto de ulterior escisión de las paracaseínas, de esta manera : caseína → paracaseínas → albumosas.

La leche, alimento del recién nacido y de los animales en las primeras fases de la vida extrauterina, en las cuales el desarrollo es más rápido, presenta en su composición el ejemplo de una perfecta adaptación a su destino. Se ha observado que la composición centesimal corresponde aproximadamente — salvo la adición de substancias proveedoras de energía — a la del animal acabado de nacer.

Bunge ha afirmado que, comparando la composición de la leche en las distintas especies animales, existe una relación entre su riqueza en principios eminentemente plásticos, como las proteínas y las sales, y el tiempo que el animal joven emplea para duplicar su peso, tiempo que puede considerarse como una medida de la velocidad del desarrollo. En efecto : la leche de coneja, cuyo recién nacido emplea 6 días únicamente para doblar el peso inicial, contiene más del 10 % de proteínas y un 2,5 % de cenizas, mientras la leche de cabra, cuyo recién nacido duplica su peso en 22 días, contiene cerca del 4 % de proteínas y 0,8 % de cenizas, y la de mujer, cuyo recién nacido dobla de peso en 180 días, contiene aun menos proteínas y sales.

También se encuentran excelentes pruebas de adaptación para la grasa. Esta abunda más en la leche de los animales que viven en países fríos, más aún en la de los cetáceos que viven en el agua, medio mucho mejor conductor que el aire y que por lo tanto sustrae más calor al cuerpo que el aire. Esto se debe precisamente a que la grasa es el alimento más termógeno en el mínimo de volumen.

La leche no tiene más que un defecto : es pobre en hierro, tanto que el nuevo ser viene a luz con una provisión de hierro (procedente de la madre) en el hígado y en el bazo, y la consume para las necesidades de la hematopoyesis durante todo el período de la dieta láctea exclusiva. Hacia el final de ésta es frecuente que el lactante sufra escasez de este metal, por lo cual es necesario no comenzar demasiado tarde a dar al niño alimentos ricos en hierro. Los alimentos más ricos en hierro son las hojas verdes, después las uvas y la carne. La fijación de una provisión de Fe en el hígado del feto puede sustraer a la embarazada una gran cantidad de este elemento, que debe ser administrado abundantemente en el régimen. Estos hechos proporcionan algún dato para la explicación de la frecuencia de los estados anémicos en las embarazadas. El niño que crece debe tener naturalmente una ración alimenticia capaz de proporcionar los materiales para la construcción de los nuevos tejidos y energía para su termogénesis más intensa, y para cubrir la llamada *energía de desarrollo* que, como observa Bottazzi, es difícil de definir pero que ciertamente exige una cantidad de la energía suministrada al organismo que crece. El organismo en desarrollo emplea esta energía convirtiéndola en energía de superficie (formación de nuevas células) o en energía osmótica (Bottazzi). De la energía contenida en un huevo de gallina, cerca de $^1/_6$ es empleado como energía de desarrollo y por lo tanto no se encuentra en el polluelo en forma de material organizado o como material de reserva.

El niño tiene, pues, necesidades energéticas distintas de las que posee el adulto : mientras éste, por término medio, necesita de 40 a 50 calorías por kilogramo de peso corporal para un trabajo no fatigoso, el niño tiene necesidad de un número de calorías mucho mayor relativamente a su peso, hasta 100 calorías por kilogramo en los primeros meses (de las cuales cerca de 30 se calcula que se emplean en el desarrollo). Heubner ha llamado *cociente de energía* a la relación entre las calorías introducidas diariamente con los alimentos y el peso corporal ; este cociente es de 100 aproximadamente para los tres primeros meses de la vida : es decir, que en esta edad debe realizarse la relación $\frac{\text{calorías}}{\text{peso}} = 100$, y si el peso es de 5 kg. (niño de pocas semanas) deben darse 500 calorías diarias. En el segundo trimestre

el cociente debe tener un valor de 90 ; en el tercero de 80 y en el cuarto de 70. Pero estas cifras son sólo aproximadas, da la relatividad del peso que depende de la proporción de agua contenida en los tejidos, proporción muy variable como lo ha demostrado la escuela de CZERNY.

De todas maneras será útil citar algunos otros criterios para calcular la alimentación infantil : así, según BUDIN, el niño de pecho alimentado artificialmente debe recibir diariamente $^1/_{10}$ de su propio peso de leche de vaca. Según la fórmula de PFAUNDLER se calcula, por el contrario, de esta manera : se toma una cantidad de leche de vaca equivalente a $^1/_{10}$ del peso del niño, se añaden hidratos de carbono en proporción de $^1/_{100}$ del peso del niño (pero nunca más de 50 gr. al día) se completa el total con agua hasta 1 litro, se divide en 5 tomas y cada una de ellas se administra a voluntad del niño.

Un *sistema* especial ha sido introducido por v. PIRQUET. Este investigador llama *nem* al valor nutritivo de 1 gr. de leche = 0,68 calorías ; *decinem* al valor de 10 gr. de leche ; 1 *quilonem* al de 1000, etc. Una caloría está, pues, compuesta por $\frac{100}{68} = 1{,}47$ *nems*. El cálculo se hace en *nems* en relación con la superficie intestinal, que v. PIRQUET deduce del diámetro vértico-isquiático (porque la superficie intestinal en centímetros cuadrados es igual a la medida de la altura del sujeto sentado, o al diámetro vértico-isquiático, elevado al cuadrado : un niño que tenga 40 cm. de altura cuando esté sentado, tendría 1600 cm.^{2} de superficie intestinal). En general, el máximo tolerable de alimento sería de tantos *nems* cuanta sea la superficie entérica en centímetros cuadrados. Este sistema complicado ha sido expuesto por SCHICK (1) y resumido por GIRONCOLI (2) y por PAGANI-CESA (3).

Veamos la cantidad de algunos alimentos para los niños capaz de proporcionar 100 calorías, cantidad pues, que debe multiplicarse por el peso en kilogramos de un niño de 3-4 meses para tener la ración cotidiana necesaria (cociente de energía = 100) :

100 calorías son proporcionadas por :

143 gr. de leche de mujer ;
147 » de leche de vaca ;
243 » de leche desnatada ;
434 » de suero de leche ;
77 » de nata ;
250 » de leche albuminosa ;
143 » de sopa de Liebig ;
125 » de sopa de Keller concentrada ;
225 » de una mezcla de $^1/_3$ de leche y $^2/_3$ de soluc. de lactosa al 8 % ;
160 » de una mezcla de $^2/_3$ de leche y $^1/_3$ de soluc. de lactosa al 12 %.

En los animales distintos del hombre, en los perritos, en los cerdos pequeños, el consumo de energía durante el período de crecimiento es proporcionalmente más elevado que en el hombre ; éste emplea

(1) *Das v. Pirquet-System. d Ernährung*, Berlín, 1919.
(2) *Pediatria*, 1922.
(3) *Gazz. Osped. e Clin.*, n.° 68, 1923.

para el crecimiento una cantidad menor de la energía total introducida como energía química de los alimentos.

Si comparamos la alimentación infantil con la del adulto, veremos que, en las diferentes edades, es distinta la cantidad de calorías totales proporcionadas por las tres clases de alimentos orgánicos. BUNGE ha expresado este hecho en el siguiente cuadro :

De 100 calorías proporcionadas por la ración, están representadas por :

		Proteínas	Grasas	Hidratos de carbono
Niño de pecho (leche materna)	calorías	11	51	38
Niño de 2 años y $^1/_2$	»	17	32	51
Niño de 5 años	»	18	31	51
Jovencito de 12 $^1/_2$ años	»	16	34	50
Jovencito de 14 $^1/_2$	»	15	36	48
Adulto (obrero)	»	17	16	67

Se ve que, al contrario de lo que se podría suponer, no hay una disminución del tanto por ciento de calorías proporcionadas por las proteínas al pasar de los primeros meses de la vida a la edad adulta.

En efecto, el niño crece de una manera lentísima respecto a los demás mamíferos, necesita proporcionalmente pocas proteínas y le basta con un 10-12 % de las calorías totales aportadas en forma de proteínas ; esto le es suficiente para construir sus propios tejidos. El metabolismo proteico del niño es notablemente poco activo, y su cuota de desgaste es también mínima.

También se deduce del cuadro transcrito que mientras en la dieta del adulto los hidratos de carbono, como alimentos aptos para la producción de trabajo muscular, tienen la supremacía, en el niño (tanto más cuanto más pequeño es) son las grasas las que desempeñan el papel principal en el suministro de las calorías totales, seguramente por las grandes necesidades termógenas del niño.

Estas nociones deben tenerse presentes para fijar la ración destinada a los niños (asilos, escuelas : alimentación escolar) después de la época de la lactancia ; durante ésta, la Naturaleza ya ha previsto las necesidades del nuevo organismo, asegurando un alto contenido de grasa en la leche.

Aunque dejamos para los tratados de Pediatría el estudio de todo lo referente a la importante cuestión de la lactancia materna o humana en general, en relación con la animal, o sea, con leche heteróloga, creemos del caso indicar que las citadas diferencias de composición de la leche de mujer y de la de vaca justifican por sí solas la superioridad de la leche humana para el recién nacido. Además, merece tenerse también en cuenta la reducción de la riqueza en vitaminas inherente a las manipulaciones a que necesariamente se somete la leche de vaca (esterilización, conservación prolongada, etc.), las modificaciones de las sales de Ca y quizás de las proteínas por la ebullición, y, finalmente, debe tenerse presente que aun la mejor leche animal, recogida con las mayores precauciones asépticas para que no necesite ningún trata-

miento alterante, es un alimento heterólogo para el organismo infantil, que impone a los poderes asimiladores, aun débiles, un trabajo notable, especialmente por lo que se refiere a la restauración y adición de proteínas.

f) Componentes minerales del régimen alimenticio.

Manteniendo, según los métodos de los autores americanos, animales (ratas) a un régimen constituído por substancias purificadas, pero con la adición de los factores vitamínicos necesarios (los que pueden administrarse en un pequeño volumen de substancia y de los cuales pronto hablaremos) se puede influir a voluntad en la cantidad y clase de las sales que ingieren, administrar uno u otro constituyente mineral y experimentar cómodamente acerca del valor de cada uno de los elementos por separado. Se ha visto así, que todos los elementos minerales pueden administrarse en forma inorgánica y son perfectamente utilizados por el organismo ; éste, pues, fabrica con Fe, P y S inorgánicos (sales minerales) los grupos prostéticos complejos de los cromoproteidos y de los núcleoproteidos, los componentes sulfurados de las proteínas, los fosfátidos, etc.

He aquí algunas de las mezclas salinas que, fundándose en las investigaciones de Osborne y Mendel, Mc Collum y Davis, son completamente aptas para el equilibrio y el desarrollo de las ratas :

Mezclas minerales suceptibles de mantener en equilibrio los mamíferos (añadidas a la ración total en proporción del 3-5 %) :

Mezcla de Mc Collum *y* Davis :

$NaCl$	0,175	gr.
$MgSO_4$ anhidro	0,266	»
$NaH_2PO_4+H_2O$	0,347	»
K_2HPO_4	0,954	»
$CaH_4(PO_4)_2+H_2O$	0,540	»
Lactato de Ca con $5H_2O$	1,300	»
Lactato de Fe.	0,118	»

Mezcla de Osborne *y* Mendel :

$CaCO_3$	134,8	gr.
$MgCO_3$.	24,2	»
Na_2CO_3	34,2	»
K_2CO_3	141,3	»
HCl	53,4	»
H_2SO_4	9,2	»
H_3PO_4	103,2	»
Acido cítrico con $1H_2O$.	11,1	»
Citrato de hierro con $11H_2O$.	6,34	»
KI	0,02	»
$MnSO_4$.	0,079	»
$NaFl$	0,248	»
$KAl(SO_4)_2$	0,0245	»

Esta última es la ración más perfecta.

También en el hombre se han hecho recientemente cuidadosas determinaciones del consumo de Ca y de P. Así Givens (1), Sherman y sus colaboradores (2), y Sherman nuevamente (3), han encontrado estas cifras : para el hombre de 70 kg. de peso se encuentra una eliminación total (heces y orina) de fósforo de 0,88 gr. por día, con notables oscilaciones individuales (de 0,52 a 1,2) y una eliminación diaria de calcio de 0,45 gr. (variando entre 0,82 y 0,27).

La ración alimenticia debería contener una cantidad de fósforo aproximadamente igual a $^1/_{40}$ ó $^1/_{50}$ de la cantidad de albuminoides, y una proporción de calcio cercana a $^1/_{100}$ de ésta (mínimos un poco bajos en nuestra opinión, especialmente para organismos en desarrollo). Según estos autores, como según Mc Collum y otros investigadores de dietética, los alimentos humanos contienen frecuentemente demasiado poco calcio, y sería necesaria la adición de sales de Ca o la administración de alimentos particularmente ricos en este metal (leche).

Según Albu y Neuberg, deberían existir en la ración alimenticia diaria 1-1,5 gramos de Ca.

Adviértase que la eliminación del Ca se realiza principalmente por el intestino y, por lo tanto, las investigaciones acerca del balance del Ca no tienen valor si sólo se tiene en cuenta la pequeña cantidad eliminada por la orina.

Los efectos de la deficiencia de las sales en el régimen alimenticio se revelan por la detención del desarrollo, aparición de lesiones esqueléticas, esterilidad o tendencia al aborto en las mujeres : existen interesantes datos recientes de ganaderos, sobre la esterilidad o tendencia a parir fetos poco viables, o ya muertos, en vacas mantenidas a una dieta pobre en sales de calcio (4) y, se poseen también trabajos experimentales que demuestran la existencia de relaciones entre una dieta insuficiente en el sentido proteico y mineral por una parte, y los trastornos de la reproducción, por otra (5).

También se ha dado importancia a las posibles deficiencias del potasio en la dieta (Urbeanu), pero los vegetales son generalmente ricos en este elemento y garantizan un aporte suficiente. Ya hemos visto el valor de la relación $\frac{Ca}{K}$ en el mantenimiento del estado coloidal y funcional de los tejidos, e indicaremos en otra parte las tentativas que se han hecho para modificar la riqueza salina del cuerpo con fines terapéuticos. Son especialmente dignos de mencionarse aquí los trabajos farmacológicos que ponen en evidencia el sinergismo y la acción de refuerzo del Ca respecto a los principios digitálicos (6), y del

---

(1-2) *Journ. of biol. Chem.*, vol XXXIV.
(3) *Id.*, vol. XLI y XLII.
(4) Hart, Steenbock y Humphrey, *Res. Bull. Agr. Exper. Stat. Madison*, vol. XLIX, 1920.
(5) Reynolds y Macomber, *Amer. Journ. Obstetrics. a. Gynec.*, vol. II, página 379, 1921.
(6) Löwi, *Arch. f. exper. Path, und Pharmak.*, volúmenes LXXXII y LXXXIII

K respecto a la quinidina, actualmente muy empleada en la terapéutica de las enfermedades del corazón, por lo cual algunos terapeutas insisten sobre la elección de la dieta administrada, más rica en Ca o en K según el cardiotónico empleado y cuya acción queremos ayudar. También están indicadas las dietas ricas en Ca en la tuberculosis (terapéutica cálcica), en las enfermedades de los huesos, etc.

Reunamos en un cuadro la riqueza en Ca y en Mg, y en otro la proporción de K de algunos alimentos (1).

Cantidad de CaO y MgO contenidos en un kilogramo de material fresco, según EMMERICH y LÖW (2) :

	CaO	MgO
Clara de huevo de gallina	0,18 gr.	0,18 gr.
Pan blanco	0,28 »	0,29 »
Carne muscular de buey	0,31 »	0,42 »
Maíz	0,32 »	2,06 »
Fruta	0,34 »	0,21 »
Patatas	0,39 »	0,84 »
Pan integral	0,41 »	1,52 »
Habichuelas	0,35 »	0,58 »
Arroz no blanqueado	0,46 »	1,23 »
Guisantes	0,65 »	0,94 »
Yema de huevo	1,87 »	0,30 »
Varias raíces	2,04 »	1,31 »
Verduras (hojas)	2,50 »	0,58 »
Leche de vaca	2,80 »	0,34 »

Cantidad de K_2O en 100 gr. de material fresco, según SCHALL-HEISLER :

	K_2O
Sangre (término medio)	90 mgr.
Carne de buey (medio grasa)	892 »
Carne de buey magra	507 »
Carne de ternera (medio grasa)	396 »
Carne de tocino (medio grasa)	393 »
Carne de gallina	560 »
Caviar	508 »
Salmón	314 »
Los demás pescados contienen menos que los anteriores ; así la anguila, sólo 1 ; la carpa, 259 ; etc.	
Huevos (100 gr. de clara y yema)	184 »
Leche de vaca	190 »
Leche de mujer	101 »
Arroz (según sea o no mondado)	74 a 674 mgr.
Pan	cerca de 90 a 200 »
Pastas alimenticias	44 mgr.
Patatas	666 »
Apio	405 »
Zanahorias	269 »
Coles	de 150 mgr. en adelante
Endibias	459 »
Otras ensaladas	de 350 a más de 500 mgr.
Espinacas (hasta marzo)	893 mgr.
Guisantes y judías	cerca de 380 »
Trufas	1078 »
Manzanas	61 »
Peras	168 »
Otras frutas	200 a 300 mgr.
Naranjas y limones	300 a 350 »
Higos secos	1161 mgr.

(1) Para detalles, v. : *Nahrungsmitteltabelle* de SCHALL-HEISLER, Leipzig, 1921.
(2) *Fotschritte d. Kaliktherapie*, Munich, Gmelin, 1915.

Debe tenerse presente que la necesidad de cada una de las sales depende de la cantidad que se da de las otras : así, la necesidad de Na depende hasta cierto punto del aporte de K, porque debe existir en el régimen una cierta relación entre K y Na. BUNGE puso en evidencia la mayor necesidad de cloruro sódico en los individuos sometidos a dieta vegetal, generalmente rica en potasio. BUNGE creía que las sales de K en exceso obraban arrastrando con ellas las sales de Na, por la vía del emunctorio renal, empobreciendo así al organismo en Na que debería ser administrado en forma de sal de cocina. Si bien la teoría de BUNGE no es perfecta, es cierto que debe existir un equilibrio entre dos cationes, abundantes en la sangre (Na) y en las células (K).

El cloruro de sodio tiene una acción genérica, física, osmorreguladora (la *sed* de sal y la llamada *hambre de sal*, son la expresión subjetiva de las necesidades osmóticas opuestas) y otra función específica, inherente al anión Cl′ que es empleado también para la formación del HCl gástrico. La cantidad óptima de cloruro sódico oscila para el adulto entre 6 y 20 gr. por día, dada la gran variedad de costumbres, gustos, etc. El mínimo es de 5 gr. Existen, sin embargo, individuos que consumen 30 gr. y más de sal de cocina al día. Un exceso de cloruro sódico es perjudicial en la hiperclorhidria, en los enfermos del riñón y del corazón, y en ciertas caquexias y anemias en las cuales es fácil la aparición de edemas. Nótese que también otra sal sódica, el bicarbonato, frecuentemente usado con fines terapéuticos (diabetes, nefritis, etc.) tiene acción edematógena. V. NOORDEN llama la atención con razón, acerca de las curas decloruradas demasiado severas, pues la excesiva falta de NaCl puede conducir a pérdida de fuerzas y notable depresión : GRUNWALD (1) vió que en animales con dieta pobre en NaCl y además obligados a una fuerte diuresis salina por medio de la teobromina, aparecía una hiperexcitabilidad neuromuscular, seguida de paresia de las extremidades.

El cloruro de sodio se elimina por la orina y el sudor : algunos aconsejan el empleo de un poco más de NaCl en los obreros y soldados obligados a grandes fatigas y a sudoración intensa. La sudoración provocada es un gran procedimiento de decloruración que no debe olvidarse en la terapéutica de las nefritis hidropígenas y en todos aquellos estados morbosos en los cuales está indicada la dieta declorurada.

Finalmente, en cuanto al balance alimenticio mineral, puede tener importancia la relación *entre los ácidos y las bases de los alimentos* ; no ya la naturaleza ácida o básica de los alimentos en sí, tal como son ingeridos, sino su reacción después de ser completamente oxidados, o, como se dice, la *reacción de las cenizas*, por la cual éstas tenderían a imponer al organismo la movilización de los mecanismos neutralizadores de la reacción de la sangre y de los tejidos.

Existen varios experimentos de STEENBROCK, NELSON y HART (2) que demuestran que la ingestión de ácidos (HCl) aumenta el conte-

(1) *Centralbl. f. Physiol.*, vol. XXII.
(2) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XIX, 1914.

nido de NH_3 en la orina y disminuye el de urea, porque el organismo utiliza el NH_3 liberado de los aminoácidos para neutralizar el exceso de ácido, y dispone de menos cantidad para la síntesis de la urea.

Los alimentos pueden dividirse en ácido-formadores (carnes, pescados, huevos, cereales) y álcali-formadores (leche, verduras, patatas, guisantes, judías, castañas, uvas, manzanas). En general, los alimentos ricos en ácidos orgánicos son álcali-formadores o indiferentes porque estos ácidos se queman totalmente (ácido acético) o casi totalmente (ácido cítrico) y en tal caso quedan exclusivamente los constituyentes básicos de los alimentos, que son eliminados en forma de carbonatos. Por este motivo la mayoría de las frutas son alimentos alcalinizantes, porque son ricas en K y Na, Ca o Mg, unidos a ácidos orgánicos rápidamente combustibles. Sólo las ciruelas y las frambuesas, que contienen bastante ácido benzoico, que no se quema, sino que se elimina unido con la glicocola, son más pronto acidificantes. Adviértase que ciertos ácidos orgánicos (cítrico, láctico) son precipitantes de los iones calcio y, por lo tanto, ingeridos en gran cantidad (cura exagerada de limones) pueden penetrar en la sangre y, no siendo rápida y completamente oxidados, tener una acción decalcificante perjudicial, con todas sus consecuencias.

Según los datos de KESTNER y KNIPPING, en el trabajo intelectual no aumentaría el número de calorías consumidas, pero se encontraría un aumento de ácido fosfórico en la sangre con peligro de acidosis : por esto sería conveniente para los trabajadores intelectuales una dieta apta para provocar el restablecimiento del equilibrio ácido-básico de la sangre, mediante una intensa secreción de jugo gástrico, que requiere una pérdida importante de iones H de la sangre. Como dieta adecuada a tal fin estos investigadores aconsejan (1) el régimen cárneo, a propósito para excitar de manera eficaz la secreción de jugo gástrico. Sin embargo, parece que el régimen cárneo debe considerarse como acidificante a la larga, porque las cenizas de la carne son ácidas : el efecto debido a la excitación de la secreción gástrica puede obtenerse con otros alimentos, con tal de que sean gustosos y bien condimentados, sin que pueda negarse que es de un efecto transitorio. Además, el predominio excesivo del régimen cárneo aumenta las putrefacciones intestinales y es frecuentemente astringente, por lo cual está también contraindicada en los intelectuales, que están expuestos a diversos trastornos debidos a la vida sedentaria.

Veremos pronto que la necesidad de sales minerales está en relación con la riqueza de los alimentos en vitaminas, las cuales en cierto modo ponen a las células en condiciones de poderlos fijar y utilizar (2). Existen, por ejemplo, ciertos factores vitamínicos que tienen función calcio-fijadora, como veremos al hablar del raquitismo.

(1) *Klin. Woch.*, 1922, n.° 27.
(2) BICKEL, *Klin. Woch.*, 1922, n.° 3.

CAPÍTULO II

Factores cualitativos y específicos de la alimentación

a) DIVERSO VALOR BIOLÓGICO DE LAS PROTEÍNAS. LA LEY DEL MÍNIMO APLICADA A LOS AMINOÁCIDOS.

Hemos indicado ya la diversa aptitud de las distintas proteínas para cubrir las necesidades de substancias nitrogenadas. En efecto, las proteínas alimenticias, animales o vegetales, tienen una composición en aminoácidos y otros grupos menos conocidos, extremadamente variada ; basta repasar la tabla transcrita en la página 108 para convencerse de ello. El organismo, por lo que se refiere a la necesidad de substancias nitrogenadas, necesita principalmente una mezcla de aminoácidos, en las condiciones más favorables para edificar con ellos el propio protoplasma o, por decirlo mejor, todos los protoplasmas de las células diferenciadas que lo componen. Sabemos ya, que el tubo digestivo, por la acción de las enzimas proteoclásticas de los jugos digestivos y quizás también por la actividad de las bacterias (anaerobias especialmente) descompone las proteínas alimenticias en aminoácidos, es decir, en compuestos bastante sencillos para poder ser absorbidos a nivel de las vellosidades intestinales, órgano de la absorción. De aquí se deduce que en la sangre no se encuentran los grandes compuestos de la molécula proteica alimenticia, las peptonas o los polipéptidos más elevados, sino los aminoácidos, cuya presencia demostraron con seguridad ABDERHALDEN, VAN SLYKE y otros. No es generalmente aceptada la idea, en la que han insistido recientemente WIDAL y su escuela, de que el tubo digestivo normal *absorbe* cuerpos peptónicos y otros productos de desintegración proteica incompleta, que deberían después ser fijados por el hígado *(función proteopéxica* del hígado). Sólo por insuficiencia de la barrera representada por el epitelio intestinal con su aptitud selectiva, podrían penetrar en la sangre que va a la vena porta las substancias citadas. También en este caso puede admitirse una función complementaria de barrera por parte del hígado, barrera muchas veces también insuficiente, porque seguramente pueden entrar en la circulación, durante las enfermedades del tubo digestivo con lesiones de la mucosa y seguramente también con

insuficiencia hepática, algunos cuerpos incompletamente desintegrados, incompletamente privados de la especificidad original y por lo tanto extraños a la composición normal de la sangre. Así se explican los estados de *intoxicación alimenticia* en los niños de pecho, especialmente en los criados con leche heteróloga, ciertas formas de hipersensibilidad e idiosincrasia alimenticia, etc. Pero no sólo los proteicos incompletamente desintegrados, sino también otros componentes de los alimentos (hidratos de carbono, grasas y sales) pueden penetrar en el medio interno en cantidad excesiva o en condiciones de difícil asimilación, a causa de una permeabilidad anormal del tubo gastrointestinal y dar lugar a fenómenos morbosos (fiebre, fenómenos nerviosos y cutáneos, etc.).

Sin embargo, normalmente, la barrera intestinal es impermeable a los materiales proteicos íntegros o poco desintegrados ; el tubo digestivo es el gran transformador de las proteínas heterólogas en materiales sencillos (aminoácidos) con los cuales los tejidos deben fabricar después sus propias proteínas. En el tubo digestivo las proteínas pierden su especificidad zoológica y constitutiva, y se transforman, finalmente, en mezclas de aminoácidos (y *quizás* en otros constituyentes desconocidos) que son los verdaderos e inmediatos alimentos nitrogenados. Este inciso entre paréntesis merece ser tenido en cuenta, para explicar cómo las mezclas artificiales de aminoácidos bien definidos no son nunca suficientes en los experimentos *ad hoc* para mantener el organismo en equilibrio, mientras que se ha conseguido cubrir durante largo tiempo las necesidades de substancias nitrogenadas dando a los animales, como único alimento nitrogenado, los productos íntegros de la hidrólisis proteica, es decir, proteínas naturales completamente hidrolizadas, como ya hicieron Abderhalden (1), Frank y Schittenhelm (2) y Buglia (3). Esto demostraría que en las proteínas existen complejos atómicos que no son los aminoácidos conocidos, y que en el problema alimenticio proteico no debemos ver solamente un problema de suministro de aminoácidos, sobre los cuales quizás se ha fijado la atención demasiado exclusivamente. De todas maneras es cierto que hay aminoácidos que deben existir preformados en las proteínas alimenticias, porque el organismo de los vertebrados superiores no puede fabricarlos con los otros ; así sucede, probablemente, con todos los que tienen un grupo cíclico de átomos de carbono (el organismo, al menos el de los animales superiores, es *aciclopoyético*, como dicen Osborne y Mendel) y con algunos otros, por ejemplo la lisina. Otros aminoácidos, por el contrario, no son necesarios en la alimentación porque, como la glicocola y otros de cadena abierta, pueden probablemente formarse en el mismo organismo. Osborne y Mendel se han distin-

(1) *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. XLIV, XLVIII, LI, LIII, LV, LVIII, LXXI, LXXIV, LXXVII, LXXXI, LXXXIII, XCVI.
(2). *Id.*, vol. LXXIII.
(3) *Zeitschr. f. Biol.*, vol. LVII ; N. F., XXXVI, pág. 365.

guido por sus estudios sistemáticos (1) en ratas sobre el valor alimenticio de las proteínas en relación con su riqueza en aminoácidos, para lo cual administraban a los animales en vías de desarrollo o adultos, mezclas alimenticias completas en cuanto a su contenido en sales, hidratos de carbono, grasas y factores accesorios (de los que ya hablaremos), pero con una sola proteína químicamente pura, añadiéndoles alguna vez determinados aminoácidos.

He aquí un ejemplo de un régimen alimenticio de Osborne y Mendel (2) :

Gliadina	8	partes (una proteína del trigo)
Almidón	24	»
Mantequilla	18	»
Manteca de cerdo	12	»
Leche *exenta de proteínas*	28	»

Este último componente del régimen es leche privada de proteínas y grasa, muy empleada en los trabajos americanos sobre dietética : sirve para dar una mezcla salina y algunos componentes esenciales del tipo de las vitaminas. Con aquella dieta los autores americanos habían mantenido de un modo aproximadamente normal el peso de las ratas adultas, pero se observaba la detención del desarrollo en las ratas jóvenes y esta falta de desarrollo estaba en relación con la escasa proporción de lisina contenida en la gliadina. Este aminoácido es, pues, necesario para el desarrollo, y en realidad bastaba añadir un poco de lisina a la ración para ver reanudarse el desarrollo con su curso normal. La caseína es una proteína completa a la que falta únicamente la cisteína, que debe pues ser añadida. Los animales adultos alimentados con caseína sola, pero con lactalbúmina (una de las proteínas más completas), ovoalbúmina o glutelina del maíz, se mantienen con peso normal, y si son jóvenes se desarrollan más o menos bien. Por el contrario, la *zeína*, que representa más de la mitad de las proteínas del grano de maíz y carece de triptófano y de lisina, es una proteína muy incompleta : los ratones alimentados con zeína permanecen en *déficit* y mueren bastante pronto. El triptófano, pues, no solamente es necesario para el crecimiento, como la lisina, sino también para el simple mantenimiento del equilibrio ; en efecto, si a la dieta con zeína se añade un 3 % de triptófano, los animales no mueren, y si además del triptófano se añade lisina, se obtiene una ración que hasta permite el desarrollo. La lactalbúmina corrige también todas las deficiencias de la zeína ; una dieta con tres cuartas partes de zeína y una de lactalbúmina es una dieta completa en cuanto a la cuota proteica. La zeína es completada en grado mucho menor por la maizglutalina, que también contiene triptófano. Estos datos justifican plenamente la costumbre de dar leche junto con maíz a los cerdos jóvenes.

Determinados aminoácidos sirven probablemente para usos especiales, como algunos de cadena cerrada que quizás sirven para fabri-

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XII, XIII, XVII, XVIII, XX, XXV, XXVI
(2) *Id.*, vol. XVII, 1014.

car ciertas hormonas, según la suposición de HOPKINS, o la cisteína, que contiene S, que se emplea para la producción de proteínas abundantemente sulfuradas como la queratina. Así, se ha visto que la administración *per os* de queratina hidrolizada facilita el crecimiento de los pelos, esto es, de apéndices cutáneos formados en gran parte por queratina, que proporciona los aminoácidos más a propósito (ZUNZ).

OSBORNE y MENDEL han podido demostrar bien lo que ya se desprendía de las investigaciones de THOMAS (1) y otros, o sea que han visto (2) que *el « mínimum » de proteína está en relación con la clase de la proteína empleada* ; una misma cantidad de proteína era o no suficiente para el mantenimiento de las ratas según que se tratase de lactalbúmina, de edestina o de caseína.

Esta última se hacía más apta para el mantenimiento del equilibrio y del desarrollo si se le adicionaba cisteína, en cuyo caso se necesitaba menor cantidad de caseína.

La ley del mínimo proteico se transforma, después de estas investigaciones, en *ley del mínimo de ciertos aminoácidos*, que deben estar contenidos en las proteínas, para que la ración sea suficiente, y que son especialmente la *lisina* (necesaria para el desarrollo, no para el simple mantenimiento del equilibrio) el triprófano y la cisteína (necesarios también para el mantenimiento del equilibrio). Las proteínas incompletas, que no contienen uno o varios de estos aminoácidos, son impropias, cualquiera que sea la cantidad que de ellas se administre, para mantener al organismo ; para ellas no hay mínimo. Lo mismo puede decirse de la gelatina (que carece de triptófano) y de la zeína. Para otras proteínas existe un mínimo que depende de su riqueza en aminoácidos esenciales ; el organismo debe consumir de éstas la cantidad correspondiente al mínimo de sus componentes esenciales, sin relación ninguna con la cantidad absoluta y, por lo tanto, con su contenido en aminoácidos menos importantes, que son metabolizados y en cierto modo, desperdiciados. Entre los varios aminoácidos esenciales, el que se encuentra en menor proporción en la proteína es el que impone la regulación de la cantidad total suficiente de ésta *(ley del mínimo de* ABDERHALDEN).

Las investigaciones de MC COLLUM y sus colaboradores (3) confirman también el valor de la ley del mínimo aplicada a los aminoácidos esenciales, aun cuando difieran en ciertas conclusiones de las de OSBORNE y MENDEL (por ejemplo, en que la lisina sea el factor determinante del mínimo de las proteínas de varios cereales).

También HOPKINS (4) y ABDERHALDEN llegaron a resultados parecidos con otro método : la administración de hidrolizados proteicos, a los que se había sustraído uno u otro aminoácido o grupo de amino ácidos. Resultó siempre imprescindible el triptófano, probablemente

(1) *Rubner's Arch. f. Physiol.*, 1909.
(2) *Journ. of biol. Chem.*, vol. X, 19016.
(3) *Id.*, vol. XXVIII y siguientes.
(4) *Bioch. Journ.*, vol. X, 1916

también la arginina y la histidina, y quizás también la cisteína ; mientras que la necesidad de aminoácidos con simple anillo bencénico, quedó en duda (HOPKINS se inclina a admitir una actividad sintética del organismo animal, bastante elevada también respecto a ciertos cuerpos cíclicos).

De todas maneras resulta que la mezcla oportuna de proteínas, por completarse mutuamente en sus posibles deficiencias respectivas, da las mayores garantías de eficacia nutritiva, y se confirma cada vez más la utilidad higiénica de un régimen alimenticio *mixto*. Los regímenes uniformes, siempre con la misma proteína, están más expuestos a presentar deficiencias eventuales de constitución, sin probabilidad de ser compensadas, y con dicho régimen uniforme son probablemente más altos, a la larga, los mínimos proteicos necesarios.

Podemos decir también que, en general, las proteínas vegetales ofrecen mayores deficiencias constitutivas que los animales, y que por esto los mínimos proteicos con el régimen vegetariano puro son generalmente mayores que con el régimen mixto. Un régimen vegetariano en cuya composición entran también la leche y los huevos puede constituir mezclas excelentes de aminoácidos y ser perfecta desde el punto de vista del aporte proteico. Pueden resumirse en la siguiente lista (1) los valores biológicos de las mezclas proteicas de algunos materiales alimenticios, tal como resulta de los trabajos de los varios autores citados y de otros (valores biológicos decrecientes de izquierda a derecha) :

Riñón de buey — Trigo — Leche e hígado de vaca — Carne de buey, cebada, centeno — Maíz, avena — Semillas de soja, habichuelas blancas.

En general, si se prescinde también del valor de las proteínas, las semillas vegetales, y lo mismo los tubérculos y las raíces, se caracterizan por su escasa riqueza en sales (sobre todo Ca, Na, Cl) que son, por el contrario, abundantes en las hojas verdes : según MC COLLUM y sus colaboradores (2), las hojas verdes son también buenos correctores de las deficiencias de las semillas (por ejemplo cereales) desde el punto de vista mineral.

Las partes verdes de los vegetales, que son las de mayor actividad metabólica, se aproximan según MC COLLUM, en gran manera a los alimentos completos, y pueden incluirse entre los alimentos protectores porque completan las deficiencias del régimen *exclusivo de semillas de cereales o de leguminosas*, regímenes que son de los más *insuficientes*, tanto que *ningún mamífero puede vivir mucho tiempo con sólo granos de cereales*. Veremos pronto que, también para los factores vitamínicos, se encuentran en las partes verdes de las plantas alimentos de gran valor. En la lista del final del capítulo siguiente se encuentra indicado,

(1) SJOLLEMA, *Erg. d. Phys. Asker-Spiro*, vol. XX, 1922.
(2) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XXXVII.

junto con el contenido vitamínico, el valor de las proteínas de varios alimentos.

b) Vitaminas o factores alimenticios accesorios.

La doctrina de las vitaminas se inicia principalmente con los experimentos de Lunin (1), quien observó que los animales no podían vivir con una dieta de caseína, grasa o azúcar, pero que la adición de una pequeña cantidad de leche era bastante para corregir las deficiencias, sin que esto pudiera atribuirse a la sola administración de sales minerales, lecitina y otros constituyentes conocidos ; y con las observaciones mucho más precisas de Hopkins (2), que demostró que los ratones sometidos a un régimen alimenticio de substancias purificadas químicamente no podían subsistir durante mucho tiempo, ni aun intentando corregir con la adición de triptófano una posible deficiencia de este aminoácido. Stepp (3) demostró en 1909, que los animales mueren cuando se les somete a una alimentación desprovista de lipoides, y consideró a éstos como constituyentes esenciales de la ración. En trabajos de italianos, como Coppola (4) y Pasqualis (5) se encuentran algunos bocetos precursores de la doctrina según la cual, para que la alimentación sea capaz de mantener el equilibrio metabólico, debe contener principios que hasta hace pocos años eran desconocidos y que en gran parte todavía lo son en la actualidad.

Han venido después los estudios sobre el *beriberi*, una forma de polineuritis de desarrollo endémico-epidémico en los países donde la alimentación es a base casi exclusiva de arroz (India, China, Japón), que han dado el impulso principal al estudio de este nuevo capítulo de Fisiopatología alimenticia. Las investigaciones de Takaki, Braddon, Vordermann, Eijkmann (véase bibliografía en Funk) (6), demostraron que el *beriberi* estaba relacionado con la alimentación principalmente a base de arroz decorticado o mondado, y bastó la sustitución de la dieta de arroz por otra variada, para reducir rápidamente el número de casos de *beriberi* en la marina japonesa, en las cárceles, asilos, etc. Eijkmann (7) demostró en 1897 que las gallinas alimentadas con arroz decorticado, presentaban un cuadro análogo al humano, la *polineuritis gallinarum*, tan estudiada después.

Este último autor fué quien descubrió que las envolturas del grano de arroz (salvado o corteza de arroz), tenían la propiedad de impedir el desarrollo de la polineuritis de los pájaros, y que los extractos de este material tenían propiedades sorprendenctemente curativas, aun cuando la afección ya estuviese desarrollada. Otros demostraron después la difusión en la naturaleza de las substancias preventivas o curativas : además de hallarse en la parte periférica del grano de arroz, los principios antipolineuríticos fueron encontrados en determinadas legumbres (ciertas judías), levaduras, órganos animales, etc. Durante algunos años se creyó, con Fraser y Stanton y con Schaumann, que se trataría de substancias fosforadas. Funk reemprendió todas las investigaciones precedentes y contribuyó mucho a la demostración de que se trataba de principios contenidos en los alimentos naturales, capaces de obrar poderosamente a pequeñas dosis, que no eran fosforados sino nitrogenados (de donde el nombre de *vitaminas*, impropio porque no se trata de aminas ; sería preferible el de *factores dietéticos accesorios* que nada prejuzga) cuya ausencia en la alimentación provoca la aparición de cuadros morbosos que Funk ha llamado *avitaminosis* y que más genéricamente se han llamado también *enfermedades por carencia*, aun cuando actualmente este último término tenga una significación más amplia. Desde 1913 hasta la actualidad ha aparecido sobre este tema una extensa bibliografía, resumida en gran parte en la citada obra de Funk y en otros numerosos trabajos monográficos (1).

Actualmente puede decirse que los alimentos purificados químicamente mediante repetidas extracciones, a pesar de ofrecer un valor energético global suficiente y de contener proteínas completas en cantidad necesaria, grasas, hidratos de carbono y constituyentes salinos bien equilibrados, no bastan para mantener el equilibrio orgánico y para permitir el desarrollo de los animales jóvenes. Para que una ración tenga eficiencia completa, debe contener *además* algunos principios, que actualmente son poco o nada conocidos químicamente, pero que se sabe que están contenidos en los tejidos de los animales y vegetales empleados como alimentos, y que son más o menos destruídos por las altas temperaturas, por los reactivos y por la conservación. Su existencia se revela, más que por otra cosa, por los efectos verdaderamente patógenos que se observan cuando faltan ; a la deficiencia de cada uno de estos principios debería corresponder un cuadro morboso bien claro.

En realidad los cuadros morbosos debidos única y seguramente a la deficiencia de vitaminas, o sea de avitaminosis, verdadera y no complicada, son pocos. En la mayoría de casos el *déficit* vitamínico se combina con el *déficit* de proteínas, de grasas o de sales, creando los cuadros complejos de las enfermedades por carencia. Asimismo parece actualmente cierto que una deficiencia agrava a la otra ; que, por ejemplo, una dieta pobre en alguna o todas las vitaminas hace resaltar primero y más gravemente el *déficit* proteico accidental ; que un buen aporte de vitaminas permite al organismo mantenerse en equilibrio

(1) *Zeitschr. f. physiol Chemie*, vol V, 1881.
(2) *Analyst.*, vol. XXXI, 1906.
(3) *Bioch. Zeitschr.*, vol. XXII. .
(4) *Rendiconto R. Accad. dei Lincei*, VI, 1890.
(5) *Atti R. Instituto Veneto de Scienze*, 189-1896.
(6) Funk, *Die Vitamine*, Bergmann, Wiesbaden, 1922.
(7) *Virchou's Arch.*, vol. 148.

(1) Véanse : un buen resumen de Schaeffer, en *Bull. de l'Institut Pasteur*, 1919 ; Mc Carrison, *Studies in deficiency diseases*, Oxford, 1921 ; Eddy, *The vitamine Manual*, Baltimore, 1921 ; Harrow, *Vitamines*, New-York, 1921 ; A. Ascoli, Pugliese Centanni y Rondoni, en *Atti Soc. Ital. di Biochim.*, Riunione di Catania, abril 1923, editado por Capelli, Bolonia, en el volumen de 1925 ; Strep, *Klinische Woch.*, 1922.

con una cuota proteica más baja ; que ciertas vitaminas facilitan la fijación de las sales en las células y regulan su contenido acuoso ; todo lo cual confirma la relatividad del concepto de cuotas proteica y salina mínimas.

Actualmente se admiten las siguientes *vitaminas*, *nutraminas* o *eutoninas* (como las llaman ABDERHALDEN y PUGLIESE).

Factor A. — Se ha llamado por MC COLLUM y sus discípulos (1) factor *liposoluble* porque es soluble en las grasas y en realidad se encuentra en las grasas animales (de órganos glandulares) y en la leche : fué descubierto al mismo tiempo por OSBORNE y MENDEL (2) y por MC COLLUM y DAVIS, quienes observaron que las ratas sometidas a una alimentación artificial y en apariencia completa, no crecían si no se añadía mantequilla o extracto etéreo de mantequilla a su ración (3). Pero ya HOPKINS (4) había observado en 1912 que pequeñas adiciones de leche, incapaces de obrar por las proteínas, las grasas o las sales contenidas en ellas mejoraban extraordinariamente la efectividad de la dieta sintética. Actualmente se considera este factor *A* como factor esencial para el desarrollo de los animales jóvenes. También se desarrolla una enfermedad ocular en las ratas alimentadas con una dieta privada de este factor *A* : la llamada *queratomalacia*, una forma ulcerosa de la córnea, cuya nutrición debe sufrir de una manera especial por este *déficit* vitamínico, sería una verdadera avitaminosis con manifestaciones oculares (MC COLLUM, DRUMMOND) en la que sin embargo intervienen infecciones secundarias. En la Patología humana se encuentran casos de necrosis y ulceración corneal que aparecen de una manera casi epidémica en los niños desnutridos, especialmente en los sometidos a regímenes en los que escasean los alimentos conocidos como aportadores de vitamina A (descritos en Viena, en Dinamarca y en Inglaterra, especialmente durante la guerra). Además de en la leche y en la mantequilla de la leche, el factor *A* abunda en los huevos y en la grasa de los órganos con metabolismo intenso, especialmente del hígado : el aceite de hígado de bacalao es un verdadero concentrado natural de vitamina A. Por el contrario, las grasas de depósito son generalmente muy pobres en el factor *A* y carecen de él

(1-2) *Journ. of biol. Che.*, XV, 1913

(3) La *protein-free-milk* de OSBORNE y MENDEL es suero de leche desalbuminado y concentrado a temperatura no muy alta, por lo cual contiene la lactosa y las sales de la leche, y no está exento de indicios de N. Estos autores vieron que la adición de dicho preparado a la alimentación) combinada como se ha dicho en la página 281) no bastaba para que fuese perfecta para las ratas jóvenes, aun cuando la mejorase respecto a la dieta integrada únicamente por proteínas, almidón y manteca de cerdo, pues, añadía evidentemente más hidratos de carbono y, sobre todo, sales. Se necesitaba la mantequilla para que la alimentación fuese perfecta. La manteca de cerdo — ya presente en ella — no contenía evidentemente el principio necesario. La grasa de la mantequilla está, pues, provista de propiedades singulares, excitantes del desarrollo. Estas son las primeras comprobaciones claras de la diferencia entre grasas de depósito (manteca de cerdo), privadas del principio maravilloso, y grasas de los órganos activos (grasa de la leche, de la mama) que lo contienen.

(4) *Journ. of Physiol.*, vol XLIV.

los aceites vegetales, el aceite de olivas, por ejemplo. Son ricas en él las hojas verdes (desde cuyo punto de vista se deduce el valor protectivo de las verduras, además del valor que tienen como aportadores de substancias minerales) ; las semillas de los cereales son bastante pobres en este factor, aunque no carecen de él por completo. Resiste moderadamente al calor, aunque existen resultados discordantes ; parece que resiste poco a las acciones oxidantes, por lo que desaparece en muchas manipulaciones de las grasas que lo contienen.

Es cierto que no es un lipoide ni un lipocromo, aunque va muy frecuentemente asociado con ellos ; las experiencias más antiguas (STEPP) que querían demostrar la necesidad de los lipoides en la alimentación, extraían junto con ellas la vitamina y atribuían a los lipoides lo que era debido a la acción de la vitamina asociada a ellos.

La acción de este factor dietético, es obscura : Las recientes investigaciones de HAMBURGER y COLLAZO (1) parecen demostrar que la vitamina A facilita la utilización de las grasas, de tal modo, que en su ausencia se presentaría una hiperlipemia.

En cuanto a la acción del factor *A* sobre el ojo, parece que consiste en una excitación de la sensación de las glándulas anejas al globo ocular, por lo cual la falta de esta vitamina en la dieta, produce una distrofia conjuntival (xerosis), a la que sigue luego la lesión ulcerosa de la córnea. Parece que también otras funciones glandulares quedan comprometidas por la ausencia del factor *A* ; así parecen atrofiarse las glándulas mucosas de las vías respiratorias superiores, lo cual podría explicar la disminución de la resistencia de los animales a las infecciones bronco-pulmonares.

En conclusión, el factor *A* tiene una acción trófica general y de una manera especial sobre ciertos tejidos, principalmente glandulares aumentando la resistencia a las infecciones oculares y de las vías respiratorias. Adviértase que parecen existir distrofias oculares semejantes a las de la avitaminosis A, pero debidas, por el contrario, a deficiencias minerales de la dieta.

Según DRUMMOND (2) el principio activo se encuentra en las grasas, unido a una parte de la fracción insaponificable, distinta, sin embargo, de la colesterina y que destila precisamente a baja presión a 180°-200°.

El factor *A* parece ser un cuerpo no nitrogenado, resistente a la saponificación y ebullición a 200°. TAKAHASHI ha llamado *biosterina* al principio activo, atribuyéndole la fórmula $C_{22}H_{44}O_2$.

Factor E. — Es un factor soluble en las grasas y lipoides, más o menos ligado a algunos de éstos, encontrándose muchas veces unido al factor *A*, con el que se le ha confundido durante mucho tiempo. Pero ya en 1922 MC COLLUM y sus colaboradores (3) habían supuesto que

(1) *Klin. Woch.*, 1923, n.° 37 y 38.
(2) LANCET, 1926, I, pág. 272.
(3) *Journ. of biol. Chem.* vol. L.

en las distintas grasas de los órganos existían actividades diversas de tipo vitamínico, y las investigaciones posteriores lo han diferenciado perfectamente.

Entre los factores vitamínicos liposolubles se distinguen actualmente, además del factor *A* (antixeroftálmico y activador del desarrollo) un factor *E* y un factor *F* (véase más adelante). El factor *E* ha sido también llamado por algunos, como DRUMMOND, factor *D* ; pero con la letra D ya ha designado FUNK un factor hidrosoluble (presente con frecuencia junto con el factor *B* antineurítico), activador del desarrollo de los microfitos (levaduras) del que trataremos a propósito del factor *B*. Por lo tanto, con el nombre de factor *E* entenderemos aquella vitamina liposoluble que domina el metabolismo del calcio, que determina la fijación del Ca en la línea epifisaria de los huesos largos durante el crecimiento, que tiene, por lo tanto, esencialmente una *función calciofijadora* : es la vitamina llamada también *anti-raquítica*, porque la falta de la misma en el régimen alimenticio conduce a alteraciones esqueléticas más o menos parecidas al raquitismo, en el hombre y en los animales jóvenes de experimentación.

En efecto, se conocen, gracias a los trabajos de MC COLLUM y sus colaboradores (1) y de SHERMAN y PAPPENHEIMER (2) algunos tipos de regímenes exentos de factores liposolubles, pero que contienen además una mezcla anormal de componentes minerales ; estos regímenes producen, administradas a ratas jóvenes (aproximadamente de 40 a 80 días de edad, un raquitismo experimental bastante típico. Las siguientes dietas han sido ampliamente experimentadas por SCHETTINO en el laboratorio de Patología general de Nápoles, con resultados satisfactorios :

Dieta 84 de SHERMAN-PAPPENHEIMER :

Harina de trigo	95 %
Lactato de Ca	2,9 »
Cloruro sódico	2 »
Citrato de Fe	0,1 »

Dieta 3143 de MC COLLUM :

Harina de trigo	33 %
Harina de maíz	33 »
Glutina de trigo	15 »
Gelatina en polvo	15 »
Carbonato de cal.....	3 »
Cloruro de sodio	1 »

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XLVII, n.° 3, 1926.
(2) *Journ. of. exper. Med.*, vol. XXXIV, 1921 ; *Proc. of. Soc. f. exper. Biol. a Med.*, vol. XVIII, pág. 131. 1920-21.

Son además dignos de mención los trabajos de MELLANBY en (1) el perro, en el cual se obtuvo un raquitismo administrando a animales muy jóvenes, dietas a base de cereales, pobres en grasa y conteniendo solamente ciertas grasas animales de depósito (manteca) o vegetales (aceite de olivas).

El agente alimenticio anti-raquítico por excelencia es el aceite de hígado de bacalao que contiene evidentemente también un factor vitamínico calcio-asimilador, además del ya citado factor *A*. Otras grasas animales de órganos activos contienen el factor anti-raquítico ; todas estas substancias, suministradas, por ejemplo, a un ratón joven sujeto a una dieta raquitógena, evitan el desarrollo del raquitismo o curan eficazmente dicha enfermedad ya en evolución. Así, basta añadir un 1 % de aceite de hígado de bacalao a la citada dieta de MC COLLUM, para comprobar (radiológicamente o histológicamente) que en pocos días comienza el depósito de calcio en la línea epifisaria de los huesos.

También algunos aceites vegetales parecen contener en pequeña cantidad la vitamina anti-raquítica, mientras que carecen del factor *A* : así ocurre con el aceite de semillas de algodón y de Arachis. La parte verde de las plantas, los huevos, etc., contienen el factor *E*.

En las grasas que contienen los dos factores *A* y *E* (como en el aceite de hígado de bacalao) la oxigenación en caliente hace desaparecer al primero, mas no al segundo ; prueba de su falta de identidad.

Las raciones raquitógenas presentan regularmente un desequilibrio entre el contenido en Ca y en P ; así en las dietas citadas y ampliamente comprobadas por nosotros hay un exceso de Ca en relación con el P. Según estudios posteriores de MC COLLUM también las dietas demasiado ricas en fósforo en comparación con el calcio dan lugar a distrofias óseas en el esqueleto en vías de desarrollo. Para que el desarrollo de los huesos se realice de una manera normal es, pues, necesario que la dieta contenga una proporción debidamente equilibrada de Ca y de P : la proporción correspondiente, de una manera aproximada, a la del fosfato de cal que debe depositarse en los huesos. Ahora bien, el factor *E* de la alimentación, es capaz de corregir el desequilibrio mineral y de conseguir una buena calcificación de los huesos hasta cuando el contenido proporcional de Ca y de P en la dieta es anormal.

La acción de este factor consiste en lograr una asimilación normal y equilibrada del Ca y del P hasta con dietas desequilibradas en cuanto a la composición mineral.

En el raquitismo, como diremos también en otro lugar, hay una *diosionia*, un desequlibrio en el contenido mineral de la sangre que se refleja luego en el desarrollo y en el metabolismo del esqueleto. Hay, según HOWLAND y CRAMER (2), HESS (3), FREUDENBERG y GYÖRGY (4), una reducción de los fosfatos en la sangre y una conservación del con-

(1) LAUCET, 1920, n.° 16.
(2) *Monatschr. f. Kinderheilk*, vol. XXV, 1923.
(3) *Journ. Amer. Med. Assoc.*, vol. LXXIV, pág. 217, 1920.
(4) *Klin. Woch.*, 1922-23.

tenido aproximadamente normal, del calcio ; en conjunto habría *acidosis*. Este desequilibrio iónico pasaría fácilmente, por su labilidad, al término opuesto, o sea a la alcalosis, con aumento de los fosfatos (P inorgánico) y disminución del calcio, provocándose así el estado de *tetania* (véase a propósito de la química de la sangre). De todos modos, los factores alimenticios deben estar en relación con esta labilidad y anormalidad de la composición mineral de la sangre, corrigiéndola, y produciendo así la asimilación regular del calcio.

Pero los estudios de estos tres últimos años han conducido a nuevas comprobaciones ; ya Uldschinsky (1) había observado que la exposición de los raquíticos a los rayos ultravioleta tenía una acción claramente curativa y los experimentos con ratones de Mc Collum (también Schettino lo ha comprobado) probaban que el raquitismo experimental es también prevenido y curado por la acción de los rayos ultravioleta de una lámpara de cuarzo. Podía, por lo tanto, suponerse una especie de sinergia entre el factor vitamínico y el factor físico (rayos ultravioleta). En efecto, se ha hablado de una acción calcio-fijadora de la luz (Hamburger) y se ha visto que la luz, en virtud de sus rayos químicos (Cap. IX de la Sec. II) podía suplir o sustituir más o menos a la vitamina. Hess y Weinstock (2) y Steenbock y Nelson (3) han llegado a la conclusión siguiente : basta la irradiación con rayos ultravioleta de los materiales alimenticios exentos de vitamina anti-raquítica, para hacer aparecer en ellos la aptitud anti-raquítica, como si se formase la vitamina misma bajo la acción de las radiaciones. Así, en el aceite de olivas, totalmente inactivo contra el raquitismo experimental, se vuelve *activo*, esto es, capaz de prevenir la aparición del raquitismo y de curar el ya desarrollado si ha sido expuesto en capa delgada, durante media hora, o poco más a la acción de una lámpara de cuarzo. Pueden activarse todas las grasas y aceites inactivos y puede aumentarse el poder anti-raquítico de los que lo poseen en pequeña escala como Rondoni (4) ha comprobado con el aceite de Arachis ; también se activan los alimentos vegetales (espinacas), la leche condensada, hasta las dietas raquitógenas, como la de Mc Collum. Se han ensayado varios *alimentos irradiados* en la terapéutica del raquitismo humano, con éxito distinto, como la leche condensada irradiada, por György (5).

La irradiación prolongada anula la acción vitamínica, hasta en los mismos alimentos activos de por sí, como el aceite de hígado de bacalao.

Puede, por tanto, suponerse que la irradiación del organismo actúa en un sentido anti-raquítico y calcio-fijador (hasta fuera del raquitismo y en el adulto ; recuérdese las aplicaciones en la cura de la tuberculosis,

(1) *Deutsch. med. Woch.*, 1919, pág. 702.
(2) *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.* ; XXII ; Laucet, 2 enero, 1926 ; *Journ. of biol. Chem.*, vol. LXIV, 1925.
(3) *Journ. of biol. Chem.*, vol. LXI-LXII-LXIV.
(4) Trabajo con extensa bibliografía en : *Sperimentale*, 1926, n.° 4.
(5) *Klin. Woch.*, 1926, n.° 17.

fracturas, etc.) en cuanto provoca la formación del factor *E* en substancias anteriormente inactivas en la piel, esto es, en el tejido directamente expuesto. En efecto, los autores americanos han encontrado que hasta pequeños trozos de piel, irradiados, adquieren acción anti-raquítica, o sea, que suministrados a ratones alimentados con una dieta raquitógena, evitan el desarrollo del raquitismo. El factor luminoso, engranaría por lo tanto con el metabolismo mineral, por lo menos en parte, activando en el organismo (piel) ciertas substancias preexistentes, pero inactivas, que pasan luego al medio interno y obran como las substancias análogas procedentes de la alimentación ; la piel tendría una especie de secreción interna, provocada por un factor físico.

En los alimentos se encuentra la vitamina E en cuanto la irradiación solar ha actuado sobre los organismos que la proporcionan produciendo la transformación en vitamina activa de substancias preexistentes ; es probable que el hígado del bacalao sea tan rico en vitamina porque este pescado se nutre de pequeños organismos del *plankton* de alta mar, ampliamente expuestos a la luz y, por lo tanto, ricos en substancia activa, que va luego a almacenarse en el hígado del pescado.

Pero ¿cuál es la substancia que genera la vitamina bajo la acción de los rayos ultravioleta, substancia que podríamos llamar *previtamina?* Se ha comprobado, por los mismos americanos, que la substancia activable es una fracción insaponificable de las grasas y se ha pensado en la colesterina. Realmente los preparados comerciales de colesterina, disueltos en aceite, son activables y la colesterina cambia de color y modifica su espectro de absorción por la acción de las irradiaciones. La cuestión ha sido estudiada en fecunda colaboración internacional por Pohl y por Windaus, de Gottingen (Alemania), Rosenheim, de Londres y Hess, de New-York, y las conclusiones, publicadas a fines de 1926 (1) son las siguientes : La verdadera previtamina o substancia activable no es la colesterina (en realidad también Rondoni, en el trabajo ya citado, expone sus dudas respecto a que la colesterina sea la substancia generadora de la vitamina, antes de conocer los resultados de los autores citados), sino otro cuerpo, una esterina, que se encuentra en ciertos hongos y, como impureza, también en muchos preparados comerciales de colesterina ; Windaus la llama *ergosterina*. La ergosterina pura, irradiada, tiene una acción potentísima : una fracción de miligramo salva al ratón del raquitismo experimental. Esta substancia experimenta la modificación espectral por la acción de los rayos ultravioleta, como expresión de su transformación en vitamina. Parece que la ergosterina irradiada actúa poderosamente también en el raquitismo humano (2).

El raquitismo parece, pues, esencialmente debido al déficit de un factor alimenticio originado, fuera o dentro del organismo, por la acción de un agente físico (radiaciones de corta longitud de onda). Pero

(1) Resumen muy claro de Holtz en *Klin. Woch.*, 1927, n.° 12.
(2) György, *Klin. Woch.*, n.° 13.

no pueden negarse todavía otros factores etiológicos en esta enfermedad : factores endógenos (hereditarios), limitación de los movimientos en los animales jóvenes, factores tóxicos e infectivos ; el factor *mejor conocido* es el vitamínico-luminoso.

Factor F. — Bishop y Evans (1) han puesto en evidencia una substancia soluble en éter, que se extrae de los embriones de semillas vegetales, pero no del aceite de hígado de bacalao. Esta substancia favorecería la fecundidad en los animales y su ausencia parece ir acompañada de esterilidad y en la hembra grávida de la interrupción precoz del embarazo.

Factor B.— Es el mejor conocido o, por lo menos, el que se cree conocer mejor. Ha sido revelado por las investigaciones de los autores holandeses (Eijkmann y otros) sobre la polineuritis aviaria producida por el arroz decorticado, y por las de los autores americanos varias veces citados (2) acerca del desarrollo de las ratas jóvenes. En cuanto se refiere al primer grupo, debemos decir que mejor que las gallinas (que experimentan varias distrofias durante su vida en los laboratorios) se prestan los pichones para demostrar el desarrollo de las lesiones degenerativas características a expensas de los nervios periféricos (actualmente se admiten también lesiones centrales) con formas clínicas diversas (forma atrófica, espástica, mixta, etc.) y con reducción constante del peso corporal. Además del arroz descascarillado, dan lugar al desarrollo de la polineuritis muchos otros tipos de dietas uniformes con cereales privados de las cubiertas del grano : granos de trigo, de maíz, etc., o sus harinas de bajo rendimiento, esto es, molidas durante mucho tiempo y muy finamente y, por lo tanto, despojadas de todo el salvado (constituído por la envoltura de los granos, por la capa aleurónica y por buena parte de los embriones). Finalmente, por los estudios de Weil y Mouriquand (3) sabemos que aun los alimentos que contienen el principio activo, si son esterilizados (mantenidos en el autoclave a una temperatura por lo menos de 130° durante media hora) pierden gran parte de su poder vitamínico y pueden provocar cuadros de polineuritis en las aves.

Sin embargo, actualmente se duda un poco de la pureza del cuadro presentado por las gallinas o pichones, es decir, se cree que en la dieta empleada comúnmente para producirlo no sólo falta el factor *B* o *antineurítico* sino también otros factores (así, el factor *A* es bastante escaso en las semillas de los cereales, como ya se ha dicho (y además) quizá existen en aquella dieta deficiencias completas de sales o quizá de proteínas. Es un hecho que en las partes periféricas de los granos y embriones — o sean aquellas que son eliminadas al separar el salvado para refinar la harina o decorticar el arroz — se encuentran concentradas las proteínas, los lipoides y los compuestos fosforados.

(1) *Journ. Amer. Med. Assoc.*, vol. LXXXI, 1923.
(2) Amplia bibliografía en los volúmenes de 1913 y en adelante del *Journ. of biol. Chemistry*.
(3) *Compt. rend. Soc. de Biol.*, vol. LXXXIX y sig. ; *Revue de Médec.*, 1.° enero 1916.

Estas consideraciones tienen aún mayor valor cuando se aplican al *beriberi* humano, cuya identificación absoluta con la afección de las gallinas y pichones es aceptada con algunas reservas, aunque se debe reconocer que la base etiológica fundamental reside seguramente en el *déficit* de la vitamina antineurítica.

Por el contrario, son mucho más dignas de consideración las investigaciones exactas de los americanos, hechas con ratas en el período de desarrollo, sujetas a una dieta completada cuidadosamente desde todos los puntos de vista menos en el factor *B* que se quería estudiar. Las ratas alimentadas con arroz mondado mueren demasiado pronto para dar tiempo al desarrollo de lesiones nerviosas ; pero si se emplea la alimentación siguiente : caseína purificada, 18 % ; dextrina, 71,3 % ; agar, 2 % ; mantequilla, 5 % (para dar el factor *A*) y sales, 3,7 % ; se puede hacer vivir a las ratas durante mucho tiempo y producir las (Mc Collum y Simmonds) lesiones paralíticas de la polineuritis. La alimentación empleada carece solamente del factor *B* (y del *C*, que no parece sin embargo necesario a las ratas pero, que en todo caso puede agregarse añadiendo un poco de jugo de naranja). Generalmente, con el método experimental de los regímenes sintéticos en la rata no se busca el desarrollo de la neuritis, sino que se va siguiendo el crecimiento de los animales jóvenes, lo que indica que este factor, que falta en tantas substancias purificadas y en los cereales decorticados y se encuentra en los alimentos que luego veremos, tiene dos acciones : una referente al trofismo de los nervios y otra favorecedora del desarrollo de los animales jóvenes.

Se podría, pues, dosificar en cierto modo la riqueza en factor *B* de un alimento por uno de los dos métodos siguientes : suministrándolo a pichones polineuríticos por dieta de arroz decorticado y ver si tiene actividad terapéutica (también la inyección intramuscular del extracto practicada a un pichón gravemente enfermo debería sanarle), o por la administración a ratones en crecimiento sujetos a un régimen alimenticio completo desde todos los puntos de vista, pero privado absolutamente del factor *B* y observar si aumentan de peso.

Pero las substancias que contienen el factor *B* tienen acción estimulante del desarrollo aun para los organismos inferiores, como las levaduras : Williams (1), Abderhalden y Schaumann (2), Funk y Dubin (3) proponen también algunos métodos para determinar la vitamina consistentes en ensayar su acción sobre el desarrollo y el poder fermentativo de levaduras (blastomicetos). Pero, posteriormente, fundándose en los trabajos de Emmett y Luros, y en investigaciones propias con Dubin (4), Funk ha llegado a la convicción de que las substancias (de las levaduras, de los varios productos naturales, etc.)

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XLII, pág. 259, 1920.
(2) *Fermentforschung*, vol. II ; *Pflüger's Arch.*, vol. CLXXII.
(3) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XLIV.
(4) *Id.*, vol. XLVIII, 1921.

que activan el desarrollo de las levaduras y de las bacterias no son idénticas al factor *B* que activa el desarrollo de los mamíferos o preserva a éstos y a los pichones de la neuritis, y llega a proponer el nombre de vitamina D para el principio o principios o que actúan sobre los microfitos citados, aunque supone relaciones genéticas entre éstos y los que engranan en el metabolismo de los vertebrados superiores. A favor de la naturaleza completamente especial y distinta del factor *B* existen también las investigaciones más recientes de WILLAMAN y OLSEN (1) que llaman *bios* al factor del desarrollo de las levaduras. FUNK ha demostrado que el agente antineurítico es soluble en agua (por lo cual los americanos le llaman también *factor hidrosoluble)* y en alcohol diluído, y ha intentado extraerlo y purificarlo, trabajando con grandes cantidades de levaduras, que son ricas en productos de acción antineurítica.

Hidrolizando con ácidos las levaduras y tratando después el hidrolizado con ácido fosfotúngstico, precipita el principio activo ; disolviendo posteriormente el precipitado y tratándolo con una solución amoniacal de plata, el principio activo pasa al precipitado argéntico. FUNK ha creído haber aislado el principio activo, llegando a un cuerpo nitrogenado, obtenible en pequeñísima cantidad, pero, más recientemente, dice que en las operaciones sucesivas de fraccionamiento se pierde la actividad específica, quizás porque las substancias que acompañan a la vitamina la estabilizan, mientras que al serle separadas se vuelve más lábil. Se le ha supuesto una naturaleza de cuerpo con anillo purínico o pirimidínico. ABDERHALDEN ha pretendido haber aislado también una base especial *(asciamina) ;* pero todos los cuerpos de fórmula conocida ensayados en los animales han dado un resultado nulo en cuanto a función vitamínica.

El factor *B* resiste el calor más que las otras vitaminas, pero hacia los 120°-130° es generalmente destruído (por lo que falta en los alimentos esterilizados). Sin embargo, no se pueden obtener datos precisos porque no se ha podido obtener puro y la resistencia al calor varía mucho según las substancias con que está mezclado. La acidez del medio parece estabilizarlo ; por el contrario, los álcalis le son nocivos.

El factor *B* según investigaciones más antiguas, debería dar con ácido fosfotúngstico y fosfomolíbdico en líquido alcalinizado con carbonato sódico la reacción coloreada (azul) propia del ácido úrico ; pero las investigaciones posteriores han demostrado que no existe más que un vago paralelismo entre la presencia de la vitamina y la reacción citada (FOLIN y MACALLUM) debido a substancias que acompañan quizás al principio activo.

El factor *B* se encuentra, como se comprende por los hechos expuestos, en las partes periféricas subcuticulares y en el embrión de los granos de los cereales ; además es abundante en las levaduras (en

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. LV, n.° 4.

donde parece tener el valor de una substancia producida por las células del microfito que excita el desarrollo del mismo), de tal manera, que una pequeña adición de levaduras es el medio más corriente para asegurar la presencia de la vitamina B en el régimen con que se quiere estudiar algún otro factor dietético.

La leche contiene este factor, pero no en tanta abundancia como se creía al principio ; además, parece que su riqueza varía según la alimentación del animal productor de la leche porque el factor no es fabricado por éste, sino que probablemente procede del reino vegetal. Los huevos son ricos en factor *B*, y lo mismo los tejidos glandulares (hígado, riñones), el cerebro y algo menos la carne muscular (1). Las verduras contienen factor *B*, pero de una manera variable : en pequeña cantidad las cebollas, los tomates (éstos también son ricos en factores *A* y *C*), los rábanos, la remolacha, las coles, las patatas sin pelar, las zanahorias, espinacas (2), un poco las peras y las manzanas, y las naranjas (que parecen no contener el factor *A) ;* los plátanos, parece que contienen una cierta cantidad de las tres vitaminas conocidas. Las semillas de soja son abundantes en factores *B*, y se emplean en el hombre con fines terapéuticos (como las levaduras). En muchos de estos alimentos vegetales, el factor *B* resiste discretamente a una cocción moderada, por la acidez natural de muchos de ellos (raíces, hojas, tubérculos), pero pasa fácilmente en solución al agua que sirve para cocerlos y se pierde si se tira ésta para comer la verdura : he aquí la ventaja higiénica de utilizar el agua de cocción (caldo de verduras y de legumbres) para la alimentación, especialmente de los niños. Nótese la gran difusión en los dos reinos del factor *B*, que explica que se necesiten regímenes especialísimos para producir un *déficit* en el organismo y provocar la aparición de los síntomas morbosos. Hasta lo contienen algunos preparados, considerados como puros, como la lactosa del comercio, y se necesita una meticulosa purificación en el laboratorio para obtener lactosa exenta de factor *B*, de manera que se pueda emplear en experimentos con este objeto.

Sobre el mecanismo de acción del factor *B*, existen variadas opiniones : DUTCHER (3) encuentra una relación entre el contenido en factor *B* de los órganos y el contenido en catalasas y, efectivamente, los animales alimentados con arroz mondado poseen muchas menos catalasas en la sangre y en sus órganos que en condiciones normales. ABDERHALDEN (4) encuentra que la respiración de los tejidos en los pichones con avitaminosis B está notablemente reducida, y que las levaduras la estimulan fuertemente, por lo cual cree que el factor *B* es un excitante de las oxidaciones intraorgánicas, y que gran parte

(1) OSBORNE y MENDEL, *Journ. of biol. Chem.*, vol. XXXII y XXXIV.
(2) *Id.*, vol. XXXIX.
(3) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XXXVI.
(4) Todos sus trabajos principales se encuentran en *Pflüger's Arch.*, del volumen CLXXXII en adelante.

de las manifestaciones de la *distrofia alimenticia*, como llama a la afección de los pichones alimentados con arroz mondado, puede atribuirse a una disminución de los fenómenos de oxidación, como ya podía deducirse de las excelentes investigaciones precedentes de RAMOINO (1) y NOVARO (2). Recientemente ABDERHALDEN y WERTHEIMER (3) comprobaron el hecho interesante de que los músculos de los pichones alimentados con arroz decorticado reducen poco o nada *in vitro* la cistina a cisteína, al contrario de lo que sucede con los músculos normales. Así, pues, mientras unos creen que el factor *B* influye en el mecanismo de las oxidaciones (y en realidad la hipotermia caracteriza a la avitaminosis) otros creen que, como otras vitaminas, está en relación con los órganos de secreción interna : así Mc CARRISON (4), el mismo FUNK en sus primeros trabajos y otros, lo consideran como un excitante de las secreciones digestivas, suponiendo una relación entre él y la secretina gástrica y pancreática. Entre los italianos, PUGLIESE (5) tiende a considerar las vitaminas, en general, o *eutoninas* como substancias tónicas del sistema nervioso, que estimulan especialmente aquella parte del sistema nervioso que dirige las funciones digestivas, e influencian, pues, indirectamente el trofismo orgánico. Parece comprobado que en la polineuritis experimental hay hiperglicemia y quizás una hipersecreción de adrenalina por parte de las cápsulas suprarrenales. También es probable que la vitamina tenga cierta intervención en el metabolismo de los hidratos de carbono, porque la enfermedad experimental aparece antes si se aumenta en la ración la cantidad de hidratos de carbono que hay que metabolizar, sin aumentar paralelamente el aporte vitamínico. Todos estos hechos quedan por ahora bastante desligados entre sí, esperando que investigaciones sucesivas nos aclaren sus relaciones.

Factor C. — En 1912-13 HOLST y FRÖHLICH (6) demostraron que, sometiendo cobayos a un régimen constituído exclusivamente por granos secos de cereales, como avena, trigo, etc. se desarrolla un cuadro experimental, que dura aproximadamente de 3 a 6 semanas, y que conduce a la muerte de los animales con todos los signos de un verdadero *escorbuto* (hemorragias subcutáneas, periarticulares, gingivales, dientes denudados, lesiones osteomedulares típicas, etc.) y especialmente del *escorbuto infantil* o *enfermedad de* BARLOW. Las verduras frescas y los mismos granos germinados (7), el zumo del tomate y,

(1) *Pathologica*, vol. VI, pág. 841 ; vol. VII, pág. 101 ; *Archivio ital. di Biol.*, 1916.
(2) *Pathologica*, vol XI, n.° 265 ; vol. XII, pág. 87, 1919-1920.
(3) *Pflüger's Arch.*, vol. CXCVIII, 1923.
(4) *Brit. med. Journ.*, I, 1919.
(5) *Natura*. vol. XII, 1921.
(6) *Zeitschr. f. Hyg.*, vol. LXXII y LXXV.
(7) Está demostrado que con la germinación aparece el factor C. Como medida antiescorbútica en caso de dieta forzosa a base de cereales, CHICK, HUME y DELF aconsejan la germinación preventiva de los granos (naturalmente enteros), macerándolos en agua durante 24 horas y dejándolos luego 2-5 días en un lugar tibio, bien extendidos, para conseguir el comienzo de la germinación, después de lo cual pueden cocerse como de costumbre (cocción breve!).

especialmente, el de naranja y el de limón, tienen acción antiescorbútica preventiva y curativa, clara y constante. FUNK y otros han venido, por lo tanto, a suponer que en las hojas y frutos frescos, y hasta en ciertos alimentos frescos de origen animal, existe un factor dietético, denominado después factor *C*, seguramente distinto de los otros dos y necesario para el cobayo y para el hombre, que regula evidentemente el trofismo de las paredes de los vasos capilares y del tejido óseo medular, y quizás también el metabolismo del calcio. La deficiencia del factor *C* se revelaría entonces por la aparición del *escorbuto*. Es cosa sabida por la antigua experiencia de los navegantes a la vela, por la de los exploradores y por la experiencia reciente adquirida durante los tiempos de guerra, que el escorbuto aparece en las aglomeraciones humanas en tiempos de restricciones alimenticias y de carestía de alimentos frescos, con consumo de alimentos en conserva, galleta y similares. También el *escorbuto infantil* o enfermedad de BARLOW es propio de los niños alimentados con leche condensada, substancias feculentas y preparados artificiales: en 1918-19 hizo grandes estragos entre los niños de Viena, a los que faltaba la leche fresca.

Es ya antigua la idea empírica de que el escorbuto se cura con los jugos de ciertas frutas y en especial de las naranjas y limones. Recientemente HESS y UNGER (1) han observado en América que se puede curar el escorbuto infantil con inyecciones intravenosas de zumo de naranjas neutralizado. No hay, pues, duda ninguna acerca de la presencia del principio curativo en estos productos.

El factor *C* es particularmente necesario para el hombre, el mono (2), y el cobayo, mientras que parece menos indispensable a las ratas y ratones, en los cuales no se ha observado con seguridad el escorbuto producido por un régimen exclusivo de granos.

De todos modos parece que el organismo de las ratas extrae en cierto modo el factor *C* hasta de los materiales que son muy pobres en él, y que dichos animales los retienen en sus tejidos, pues PARSONS (3) ha observado que el hígado de las ratas mantenidas a dieta de granos secos, a pesar de que éstas no enfermen, añadiéndolo a la dieta escorbutígena para el cobayo, puede preservar a éste del escorbuto; de aquí se deduce que en los órganos de las ratas alimentadas con un régimen pobre en factor *C*, se acumulan cantidades bien apreciables de este factor. El estudio de este tema ha sido proseguido posteriormente.

El factor *C* es del todo desconocido químicamente. Se sabe que se forma en los granos de los cereales durante la germinación y que es el más lábil de los tres factores, pues resiste poco a la cocción (parece que es más nociva la *duración* del efecto de la alta temperatura que el

(1) *Amer. Journ. of diseases of children.*, vol. XVII, 1919.
(2) HARDEN y ZILVA, *Bioch. Journ.*, vol. XIV.
(3) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XLIV.

grado de ésta) y muy poco a la desecación. Resiste poco a los álcalis, mientras que en los jugos ácidos se conserva mejor ; es soluble en agua (como el factor *B*). HARDEN y ZILVA señalan otras diferencias, por ejemplo, en la adsorción por el carbón y por la tierra de FULLER (un silicato de alúmina hidratado; también llamado *Kieselguhr* o tierra de infusorios) entre los factores *C* y *B* y entre los factores *C* y *A* (1).

Se han hecho varias tentativas para obtener preparados estables (de jugos de frutas) que contengan el factor *C* (2) como el *lime juice* o jugo de limón conservado, de los ingleses.

Entre los alimentos animales, la leche contiene este factor, pero según los datos más modernos, en cantidad bastante menor de lo que se creía : se necesitan volúmenes de leche bastante grandes para preservar a los cobayos del escorbuto (3) y esto explica la aparición de esta enfermedad en niños cuya alimentación no estaba completamente exenta de leche pura. Además, la leche de vaca contiene mayor o menor proporción del factor antiescorbútico según que el animal sea alimentado con vegetales frescos o con heno y hierbas secas.

En el cuadro que luego transcribiremos se puede notar la reducción de la riqueza en factor *C* por efecto de varias manipulaciones. De ahí la práctica antiescorbútica, que debe adoptarse siempre en los niños criados con leche esterilizada o condensada, de dar cada día una o dos cucharadas de zumo de naranjas, de uva o de nabos (Comisión inglesa).

Los músculos contienen poco factor *C;* bastante más los órganos glandulares (hígado, riñón, etc.).

También parece que el factor *C* tiene alguna relación con las glándulas de secreción interna : por lo menos en el cobayo atacado de escorbuto producido por la avena, RONDONI y MONTAGNANI (4) encontraron las cápsulas suprarrenales enormemente aumentadas de volumen, con fenómenos degenerativos y hemorragias abundantes, y en el escorbuto por el maíz, una hiperplasia de los islotes de LANGERHANS y lesiones tiroideas. Más tarde publicó MC CARRISON (5) sus estudios acerca de las alteraciones de los órganos endocrinos en la avitaminosis experimental.

---

(1) *Bioch. Journ.*, vol. XII y XIV.
(2) Resumido en FUNK, 2.ª edición del libro citado, pág. 199.
(3) Una dieta escorbutígena muy a propósito para los cobayos (HESS y UNGER) y que permite obtener datos claros y rápidos es la constituída por agua, heno bien seco y avena *ad libitum*. El heno es útil porque proporciona sales en cantidad y da una cierta masa al alimento, por lo cual se opone al estreñimiento de los animales. MC. COLLUM negó durante algún tiempo que el escorbuto del cobayo fuese un cuadro debido a deficiencia vitamínica, atribuyéndolo por el contrario a la estasis intestinal por dieta incongruente, acompañada de los fenómenos tóxicos consiguientes ; actualmente parece que ha abandonado esta opinión. Una buena dieta escorbutígena esperimental para el cobayo sería la indicada por CHICK y HUME (*Bioch. Journ.*, vol. XII-XIV) : avena, salvado y 60 c. c. de leche calentada durante una hora en el autoclave a 120°.
(4) *Sperimentale*, 1915.
(5) *Brit. med. Journ.*, 1919.

Investigaciones recientes de PALLADIN (1) permiten creer en una alteración del metabolismo de los hidratos de carbono en los cobayos escorbúticos (hiperglicemia en un primer tiempo, seguida de hipoglucemia) ; además, este autor describe una creatinuria. También se ha observado el aumento de la proporción de urea contenida en los órganos (2).

El escorbuto por la avena se diferencia claramente del ayuno puro y simple por ciertas características histológicas descritas también por RONDONI y MONTAGNANI. Parece que la alimentación exclusiva con granos de maíz da lugar a lo que CENTANNI y GALASI (3) han designado con el nombre de *escorbuto mitigado*, enfermedad que había sido perfectamente descrita por BEZZOLA y LUSK y que luego RONDONI y MONTAGNANI (4) han intentado diferenciar, relacionándola con la génesis maídica de la pelagra.

Podemos resumir en el cuadro siguiente la clasificación actual de las *vitaminas* mejor conocidas :

Vitaminas liposolubles, contenidas en las grasas y lipoides.	Vitamina A	(antiqueratomalácica activadora del desarrollo).
	Vitamina E	(calcio-asimiladora o anti-raquítica).
	Vitamina F	(vitamina de la fecundidad).
Vitaminas hidrosolubles	Vitamina B	(antineurítica, activadora del desarrollo, excitante de las oxidaciones orgánicas).
	Vitamina D	(dudosa : promotora del desarrollo de los microfitos : Bios de WILDIER.
	Vitamina C	(antiescorbútica).

Podemos pues decir, en conclusión, que las vitaminas tienen una acción que todavía desconocemos en gran parte, aunque es un hecho que los alimentos sólo son bien utilizados cuando ellas están presentes y que, por lo tanto, *influencian la acción de los alimentos en el metabolismo*, como dice SJOLLEMA (5). Poseen, pues, muchas analogías de acción con las hormonas, tanto que se ha llegado a llamar a las vitaminas *hormonas exógenas*.

Parece verdaderamente que, por lo menos algunas, engranan en el mecanismo de acción de las hormonas y favorecen su producción o son utilizadas sencillamente para producir estos principios reguladores. Hay motivos para creer que algunas aminas biógenas, que están próximas a las hormonas o que son hormonas, tienen función vita-

---

(1) *Klin. Woch.*, 1923, n.° 29.
(2) LEWIS y KARR, *Journ, of biol. Chem.*, vol. XXVIII, n.° 1.
(3) *Sperimentale*, 1913.
(4) Véase su bibliografía.
(5) *Erg. d. Phys.* de ASHER y SPIRO, vol. XX, 1922.

mínica : RONDONI (1) ha visto que la adrenalina prolonga la vida de los cobayos alimentados con maíz (el *maidismo* de los cobayos parece ser una carencia compleja vitamínica, salina y proteica) y sabemos (2) cuán íntimas son las relaciones entre la secretina (que algunos consideran como próxima a la histamina) y ciertas funciones vitamínicas excito-secretoras, además de que la misma secretina parece tener función antineurítica. Puede incluirse aquí la opinión de PUGLIESE sostenida por excelentes argumentos derivados de trabajos propios y de sus discípulos y ya citada a propósito del factor *B*, según la cual la *eutonina* actuaría de una manera preferente e inmediata sobre los órganos nerviosos que influencian la digestión, y sería casi un agente farmacológico con acción directa sobre el tubo digestivo. Las investigaciones recientes de SPADOLINI (3) ponen también en evidencia las analogías entre la avitaminosis y las lesiones experimentales de los nervios mesentéricos : este autor cree también que la lesión inicial en la avitaminosis afecta al sistema nervioso de la vida vegetativa. Además, los trabajos de BICKEL (4) y MIYADERA (5) ponen de manifiesto la acción estimulante de las vitaminas sobre las secreciones digestivas: son ellas las que permiten, según BICKEL, la completa utilización de los alimentos.

Queremos citar también, porque pueden tener valor como hipótesis de trabajo, las ideas de GLANZMANN (6), según las cuales las vitaminas son una especie de *peptizadores* en el sentido de GRAHAM, es decir, substancias que favorecen la dispersión de una substancia (insoluble en si) en un líquido que obra como medio dispersante : las vitaminas favorecerían la dispersión de las micelas coloidales del protoplasma, dispersión que a su vez está relacionada con el estado de imbibición conveniente para el desarrollo de las reacciones orgánicas. La ausencia de vitaminas conduciría a un estado de *discoloidalidad* del organismo, es decir, a una disminución de la dispersión coloidal, o una menor disminución de la superficie de reacción del protoplasma. La acción favorecedora de las vitaminas sobre la fijación de los materiales alimenticios, así como sobre las oxidaciones intraorgánicas, estaría relacionada con el mantenimiento de este estado de eucolidalidad fisiológica. Cuando éste faltase, aparecerían fenómenos de agregación coloidal (demostrables también microscópicamente según GLANZMANN, por ejemplo, por el aspecto del citoplasma y de los núcleos de las células hepáticas), con disminución de la superficie fijadora del oxígeno, con lo cual se reducirían los fenómenos de catálisis de adsorción a los que, según WARBURG, se reducen las oxidaciones intraorgánicas.

(1) *Sperimentale*, 1915.
(2) UHLMANN, *Zeitschr. f. Biol.*, vol. LXVIII.
(3) *Arch. di Fisiol.*, 1922-1923.
(4) *Klin. Woch.*, 1922, n.° 3.
(5) *Bioch. Zeitschr.*, vol. CXXIV.
(6) *Monatschr. f. Kinderheilkunde*, vol. XXV, 1923.

Según GLANZMANN, entre los factores *A* y *B* existirían relaciones de activación recíproca, como entre amboceptor y complemento.

Sea como fuere, mientras hay quien cree más en una influencia general sobre el metabolismo por parte de los factores accesorios y, especialmente, en una estimulación de los procesos de oxidación, otros consideran más importante la acción local de las vitaminas sobre el tubo digestivo y sus anejos nerviosos, y ciertos autores tienden a dar más importancia a su influencia hormónica. Quizás hay diferencias entre unas y otras vitaminas y aun entre su modo de actuar en las diversas especies animales. La Fisiología comparada de las vitaminas es poco conocida ; los investigadores se han limitado generalmente a trabajar con algunos mamíferos de laboratorio y con ciertos animales domésticos (cerdos), pero poco se sabe hasta ahora acerca de los demás vertebrados y, casi nada, sobre los invertebrados. Tampoco sabemos si las vitaminas son verdaderos *metabolitos*, es decir, si se transforman en el metabolismo como todos los demás constituyentes alimenticios orgánicos, o bien son una especie de catalizadores que pasan al organismo (procedentes del reino vegetal, en donde se originan o a donde llegan quizás formados por las bacterias del suelo, como las *auximonas*, verdaderas excitantes del desarrollo según BOTTOMLEY y MOCKERIDGE) sin ser modificados durante los procesos metabólicos, y luego lo abandonan, por ejemplo, con la orina, de donde GAGLIO (1) ha comprobado por primera vez la presencia real de vitaminas.

Las vitaminas están también en relación con la inmunidad natural : los animales en estado de avitaminosis ofrecen un terreno abonado para las infecciones secundarias, y ésta es una razón por la cual muchas afecciones en las que interviene el *déficit* en factores alimenticios accesorios, fueron durante mucho tiempo consideradas como infecciosas. Sobre esta cuestión existen investigaciones precisas : GUERRINI (2) y PETRAGNANI (3) han comprobado que la dieta avitaminada provoca en los pichones la pérdida de la inmunidad natural para el carbunco, y que esta desaparición de la inmunidad precede a todos los demás signos de la avitaminosis. Según GUERRINI, los pichones con avitaminosis son más sensibles al carbunco que los cobayos, y pierden el poder de elaborar substancias defensivas. SETTI (4) ha encontrado que los pichones, alimentados con arroz mondado, pierden la resistencia al carbunco y al mal rojo de los cerdos y, hecho notable, que las razas de estos microorganismos pasadas por los animales avitaminósicos, exaltan su virulencia aun para los animales sometidos a un régimen alimenticio normal, de donde la idea, sostenida por A. ASCOLI, que la deficiencia vitamínica no disminuye la resistencia de los animales, sino que exalta la virulencia de los microorganismos que en ellos viven.

(1) *Policlínico*, vol. XXVI, 1381, 1919.
(2) *Pathologica*, pág. 308, 1921.
(3) *Igiene moderna*, n.° 5 y 6, 1921.
(4) *Bioch. e Ter. sper.*, año IX, fasc. 7, 1922.

Happ y Wagner (1) ponen en evidencia la acción beneficiosa de los regímenes ricos en vitamina A en la tuberculosis infantil.

Recientemente se ha discutido si un régimen pobre en vitaminas durante la gestación disminuye el peso del feto (de lo cual se deducirían indicaciones obstétricas) : Abel (2) lo ha sostenido ; otros, como Katz y König (3), lo dudan. Parece que el peso fetal, dentro de amplios límites, es independiente de la nutrición materna : sólo acentuadísimos grados de desnutrición lo disminuyen.

En la página siguiente transcribimos una tabla basada en los datos más recientes, sacados de la obra de Funk y de los trabajos de las Comisiones inglesa y americana que durante la guerra analizaron sistemáticamente un gran número de alimentos (con el método biológico, único posible actualmente) para averiguar el contenido vitamínico de los principales alimentos del hombre. En dicha tabla se indica también el valor biológico de las proteínas de cada alimento.

No puede decirse si existen otras vitaminas además de las tres mejor conocidas. Así, Funk piensa en una substancia especial *antipelagrosa* (cuya ausencia de la dieta debería originar el cuadro de la pelagra), contenida quizás en las proteínas y especialmente en los animales : en realidad, con el 70 % de aminoácidos encontrado en las proteínas no queda completada la lista de los posibles constituyentes proteicos, y pueden existir otros, aun no conocidos, que activen el metabolismo (acción dinámica específica de las proteínas, sobre cuya génesis, sin embargo, se tienen actualmente datos bastante positivos) o regulen varias manifestaciones funcionales. Centanni admite en la composición proteica unas *quinasas* especiales, activadoras de los fermentos proteolíticos, que explicarían en parte la acción proteinoterápica (llamadas también *estomosinas)*.

Se deben a Centanni (4) unas interesantes investigaciones sobre las substancias que excitan el desarrollo neoplásico ; este autor, partiendo de los trabajos de Stoeber y Wacker (5) y de Waker y Schminke (6) que demostraban que algunas substancias de la serie aromática (y también de la grasa) tienen importancia como excitantes de las proliferaciones atípicas del epitelio del pabellón de la oreja del conejo, ensayó varias substancias aromáticas con vistas a su posible acción excitante del desarrollo neoplásico. Encontró que el indol, administrado por ingesta a los ratones portadores de adenocarcinoma, obra verdaderamente como excitador, como *blastina*, según dice Centanni ; por el contrario, el escatol posee una acción menos importante, y otros compuestos cíclicos presentan una acción inhibente (triptófano). No todos los tumores son igualmente sensibles a la acción in-

(1) *Zeitschr. f. Kinderheilk.*, vol. XXXV, fascs. 3 y 4, 1923.
(2) *Klin. Woch.*, 1922, n.° 36.
(3) *Id.*, 1923, n.° 45.
(4) *Tumori*, I-III, año 1912-1913 ; *Pathologica*, IV, n.° 94, 1921.
(5) *Münch. med. Woch.*, 1910, n.° 18.
(6) *Id.*, 1911, n.° 30 y 31.

Contenido vitamínico y valor biológico de las proteínas de varias substancias alimenticias

SUBSTANCIAS ALIMENTICIAS	Factor A (1)	Factor B (1)	Factor C (1)	Proteína (2)
Cereales				
Avena	+	+ +	—	+
Centeno	—	—	—	+ +
Cebada	—	+ +	—	+ +
Trigo (en total)	—	± indicios	—	+ +
Embriones de trigo	—	+ + +	—	+
Harina blanca de trigo	—	±	—	+ +
Arroz integral	—	+ +	—	+ +
Arroz abrillantado	—	—	—	+
Arroz abrillantado al autoclave	—	—	—	—
Maíz (en total)	—	+ + + +	—	—
Glutina	+ + +	+ +	—	—
Legumbres				
Semillas de soja	?	+ + +	—	+ +
Guisantes	—	+ + +	—	± bajísimo
Judías	—	—	—	±
Lentejas	—	+ +	—	—
Judías blancas	+	+	—	+
Semillas				
Aceite de semillas de lino	+	—	—	
Aceite de semillas de algodón	+	—	—	
Los mismos aceites reducidos (hidrogenados)	—	—	—	
Verduras y frutas				
Coles blancas crudas	+	+	+ + +	—
Coles secadas lentamente	—	+ +	—	—
Coles secadas rápidamente	+ +	+ +	+	—
Coles hervidas	—	+ +	+	—
Patatas (crudas)	—	—	+ + +	—
Piel de las patatas	—	+ +	—	—
Patatas cocidas al vapor	—	—	+	—
Patatas asadas	—	—	+ +	—
Zanahorias	+	+	+ + +	—
Jugo de zanahorias	—	—	+ +	—
Tomates	+ +	+ +	+ + +	—
Conserva de tomates	—	—	+	—
Cebollas frescas	—	+ +	+ +	—
Espinacas frescas	+ + +	+ +	—	—
Zumo de naranjas	?	+ +	+ + + +	—
Zumo hervido	—	—	+ + +	
Zumo al autoclave	—	—	+ +	
Zumo desecado	—	+ +	—	
Piel de naranja	—	+ +	+ +	
Limones frescos	—	—	+	
Zumo de uvas	—	?	+	
Manzanas	—	+	+	
Peras	—	+	—	
Plátanos	+	+	+	
Aceite de coco	+	—	—	+
Nueces y almendras	?	+ +	—	+
Castañas	—	+ +	—	—
Aceite de palma	+ +	—	—	
Aceite de oliva	—	—	—	
Levadura de cerveza	?	+ + +	—	+ + +
Levadura al autoclave	—	+ +	—	—

SUBSTANCIAS ALIMENTICIAS	Factor A (1)	Factor B (1)	Factor C (1)	Proteína (2)
Alimentos animales				
Leche cruda	+ +	+	+	+ + + +
Leche hervida brevemente	±	+	+ reducido	
Leche condensada	±	+	+ reducido	
Leche pasteurizada	—	±	+ reducido	
Leche esterilizada	—	?	—	
Caseína del comercio	±	±	—	+ + + +
Mantequilla	+ + +	—	—	
Yema de huevo	+ +	+ +	—	
Carne magra cruda	±	±	+	+ + + +
Carne magra cocida	±	±	+	+ + + +
Conservas de carne	—	—	—	+ + +
Hígado (ternera)	±	+ + +	+	
Corazón (cerdo)	+ +	+ +	—	
Riñón e hígado (cerdo)	+ +	+ +	—	
Cerebro (cerdo)	±	+ + +	±	
Manteca (cerdo)	+	—	—	
Otras mantecas	+	—	—	
Aceite de hígado de bacalao	+ + + +	—	—	
Timo (molleja de ternera)	+	+ +	—	
Pescados (carne)	—	±	—	
Pescado (huevos, testículos)	+ +	+ +	—	
Quesos	+	±	—	+ + +
Miel	—	±	—	

dólica (no lo es el sarcoma de la rata). El régimen alimenticio exento de plantas verdes y el régimen cuya fuente de N es la gelatina (dieta escasa en compuestos cíclicos, ya que la gelatina no contiene en su molécula tirosina ni triptófano) producen en los animales portadores de tumores una disminución de la rapidez con que éstos se desarrollan ; pero de las conocidas experiencias anteriores de Moreschi se deduce que también los regímenes simplemente deficientes en cantidad producen, por la desnutrición general, una disminución del desarrollo neoplásico. Por este motivo no se sabe si con la dieta especial de Centanni se trata de influencias antiblásticas específicas o bien de una simple consecuencia de la hipoalimentación. También Funk considera que el desarrollo neoplásico está sostenido por *vitaminas* especiales o substancias excitadoras especiales y cita (3) experimentos de injerto neoplásico en especies distintas con la administración *per os* del mismo tejido neoplásico. Otros autores han comprobado también que el tejido neoplásico contiene principios que facilitan la implantación o que activan el desarrollo de los tumores : entre otros

(1) Con el mayor o menor número de + se indica la mayor o menor riqueza del alimento en cada una de las vitaminas. El signo — indica carencia.

(2) El número mayor o menor de signos + denota el valor biológico más o menos alto de las proteínas contenidas en el alimento. El signo — no quiere decir ausencia de proteína, sino que las proteínas son de valor inferior (no suficientes *por sí solas* para cubrir las necesidades proteicas).

(3) *Die Vitamine*, 2.ª edic., Wiesbaden, 1922.

ejemplos pueden citarse las experiencias de Rondoni (1), que vió que los núcleoproteidos extraídos del sarcoma del ratón activaban el desarrollo del mismo tumor. Para que el tumor pueda crecer se necesitan probablemente : 1.° *bloques* o materiales constructivos para fabricar intensamente sus propias células, y es verosímil que se requieran *bloques* especiales que no se encuentran o se encuentran en pequeña cantidad en las proteínas o en los lipoides de los tejidos normales ; 2.° excitantes especiales (*Wuchstoffe* de Ehrlich) que actúan como activadores del desarrollo neoplásico, y que podrían ser proporcionados por substancias químicas especiales, comparables a las vitaminas y a las *auximonas* vegetales. Este tema puede constituir para los experimentadores un amplio campo de acción.

c) Enfermedades por carencia.

Con este nombre se designan las enfermedades debidas a la *ausencia o deficiencia en el régimen alimenticio de uno o más constituyentes parciales* o, como dicen Weil y Mouriquand y Rathery (2), a la ausencia de aquel estado físico-químico, propio de los alimentos, que es el *estado viviente*.

Se trata, pues, en las enfermedades por carencia de formas de inanición parcial o *especializada* cuyos efectos las distinguen perfectamente de la inanición total, en la que está reducido el aporte total de calorías por una reducción aproximadamente uniforme de todos los constituyentes dietéticos.

En la carencia hay un *desequilibrio* entre estos constituyentes, hay un *déficit* de uno, más de éstos, con aporte normal o a veces exagerado de los demás ; en este último caso — de exceso absoluto de algunos constituyentes con ausencia de otros — hay casi siempre un elemento de agravación del cuadro morboso, como Funk (véase más arriba) ha demostrado bien para la avitaminosis B.

El estado de carencia se refiere, como dice Rathery (3), al valor específico de los constituyentes dietéticos y no a su valor energético.

Podemos, pues, trazar el esquema siguiente, para cuyo desarrollo debemos remitir a los tratados de Patología y de Fisiología.

Inanición
- *total.* ... Absoluta o aguda (supresión completa de los alimentos : *ayuno)*
- *total.* ... Crónica (*hiponutrición crónica*, pero equilibrada).
- *parcial.* .. Desequilibrios dietéticos, deficiencias específicas o unilaterales, *estados de carencia.*

(1) *Atti Acc. med. fis. fiorentina*, 1911.

(2-3) *Presse Médic.*, 7 octubre 1922, Congreso francés de medicina int.

Las formas carenciales se pueden clasificar de la siguiente manera :

CARENCIA
- *de proteínas* .....
  - Cuantitativa (régimen con cuota proteica por debajo del mínimo absoluto).
  - Cualitativa (régimen con cuota proteica constituída por proteínas de valor biológico insuficiente).
- *de hidratos de carbono.* Estados de acidosis y acetonemia, como en la diabetes, vómito acetonémico, etc.
- *de grasas*..... Caquexia adipopriva de los niños de pecho según COMBY ; distrofia de substancias feculentas *(Mehlnährschaden)* de los niños de pecho, etc.; quizás en parte los *edemas del hambre* recientemente descritos.
- *de sales*..... Quizás se incluyen aquí en parte las *osteopatías del hambre*, recientemente descritas ; trastornos debidos a un régimen aclorurado demasiado severo ; ciertas formas de raquitismo experimental por régimen pobre en fósforo, etc.
- *de vitaminas* . ....
  - *A) Queratomalacia* y *xeroftalmia*, ciertas *hemeralopias epidémicas ;* ciertas atrepsias infantiles ; formas experimentales de desarrollo deficiente en las ratas.
  - *B) Beriberi.*
  - *C) Escorbuto.*
- *mixta*.....
  - De vitamina A y de sales, con otros factores extra-alimenticios : *raquitismo.*
  - De proteínas animales, de sales, de vitaminas (vitamina especial ?, vitamina C y A ?) ; *pelagra.*
  - De proteínas, de grasas, quizás de alguna vitamina, con notable exceso de hidratos de carbono : *edemas del hambre,* que ofrecen por lo demás algunas analogías con la distrofia de substancias feculentas de los niños de pecho ya citada, muy difundida en los Imperios centrales durante la guerra (1).

En cuanto a la pelagra, comenzamos actualmente a vislumbrar su etiología : ésta es seguramente alimenticia ; la experiencia de la guerra lo ha demostrado desde varios puntos de vista. Remitimos al lector a la Relación de la Comisión ministerial para el estudio de la pelagra (2) y a la Relación de RONDONI al Congreso de los agregados a la vigilancia higiénica de Trieste en 1919 Notemos solamente que a la *teoría maídica* se adhirieron también BUSCHKE y LANGER, que recientemente (3) han descrito la pelagra en Berlín, y casi todos los recientes observadores ingleses y americanos La alimentación con cereales en general, y especialmente con maíz, posee varios inconvenien-

(1) SCHITTENHELM y SCHLECTH, *Die Oedemkrankheit,* Springer, Berlín, 1919.
(2) LUSTIG, Florencia, Tip. Ariani, 1921.
(3) *Klin. Woch.*, 1923, n.° 42.

tes (1) y además presenta deficiencia de vitaminas A y C, así como de ciertas sales (véase más arriba) FUNK supone que en las dietas pelagrógenas, de las cuales la maídica es la principal pero no la única, existe también deficiencia de otros nuevos factores desconocidos, unidos a las proteínas animales. Así, pues, podemos considerar a la pelagra como una carencia múltiple, parecida al ya citado *maidismo* de los cobayos

(1) BAGLIONI, *Bolletino Reale Accademia di Medicina di Roma,* XLI, fasc. 5 y 6, 1915.

CAPÍTULO III

Nociones de Química dietética médica

a) Caldo de carne.

El *caldo* es un alimento muy usado por sanos y enfermos, por lo cual es conveniente que el médico tenga un conocimiento preciso acerca de su composición. Es necesario hacer preceder este breve estudio de algunas nociones acerca de la *cocción de la carne* (generalmente carne magra de reses bovinas o de gallina) *en agua*, como es corriente en la preparación del *cocido* y del *caldo*. La carne de buey, de composición normal, no excesivamente grasa, hervida con agua hasta su cocción completa, se modifica perdiendo substancias minerales, substancias nitrogenadas y grasa, a la vez que también disminuye la cantidad de agua contenida en ella.

Se sabe que un trozo de carne magra de 100 gr. de peso, sufre por cocción completa las siguientes pérdidas :

35,17 gr. de peso (esto es, que disminuye más de $^1/_3$ de su peso) ;

32,15 gr. de agua (pierde, pues, un 45,1 % del agua que antes poseía) ;

1,84 gr. de substancias nitrogenadas (= 8,5 %) ;

0,64 gr. de grasa (el 10,4 % de la grasa que contenía, que viene a ser un 6 % del peso) ;

0,51 gr. de cenizas (correspondiente a un 48,6 % de las cenizas propias : por lo tanto pierde casi la mitad de las sales minerales).

Las pérdidas varían según las dimensiones del pedazo de carne : si los pedazos son pequeños, las substancias extraídas por la cocción son relativamente mayores. También se notan diferencias según la manera como se verifique la cocción : si se inmerge la carne con rapidez en agua hirviendo, se forma inmediatamente en la periferia una capa de proteínas coaguladas, con lo cual se hace más difícil la extracción subsiguiente por el agua (toda buena cocinera sabe que para obtener un buen cocido es necesario poner la carne en el agua hirviendo o hacerla hervir pronto, mientras que para tener un buen caldo, esto es, una abundante extracción de las substancias de la carne, es necesario poner ésta en el agua fría y hacer subir lentamente la temperatura). La riqueza de la carne en grasa puede contribuir a la disminución de las pérdidas de sales, substancias azoadas y agua. Por término medio las pérdidas (en la carne de buey) son de un 20 a un 65 % de las sales y de 3 a 21 % de las substancias nitrogenadas.

La carne que hierve, a lo sumo llega a 10° en las capas periféricas; en el interior debe llegar por lo menos a 70-80° : es regla general que el color rojo de la carne cruda desaparece y es sustituído por el gris, sólo cuando se rebasan los 70° (destrucción de la hemoglobina). A esta temperatura el tejido conjuntivo se disuelve como cola o gelatina, las fibras de la carne se separan perfectamente unas de otras (pero consideradas individualmente se vuelven más consistentes) y se forman substancias olorosas y excitantes del gusto (de las proteínas, grasas e hidratos de carbono). Esta última formación es más abundante con el *asado* de la carne, por la acción del calor seco sobre las partes periféricas que se oscurecen (costra, de notable sabor y muy excitante de las secreciones digestivas) con formación de compuestos húmicos. Se comprende que en los individuos con hipoacidez e hiposecreción gástrica la carne hervida esté menos indicada que la asada. por su menor aptitud excito-secretora.

El agua en que hierve la carne debe contener 0,8-0,9-1 % de NaCl: con concentraciones salinas más altas o más bajas hay una importante pérdida de substancias de la carne.

El caldo está, pues, formado por el agua en la que ha hervido lentamente y durante algún tiempo la carne y por los principios extraídos a ésta. Contiene por lo tanto : *pequeñísimas cantidades de proteínas* (cuando se pone al fuego la carne en frío, mientras la temperatura queda por debajo del punto de coagulación de las proteínas, éstas son extraídas y se disuelven ; después, al llegar a una temperatura más alta, las proteínas se coagulan formando una espuma oscura que se quita, por lo cual sólo quedan en indicios y desnaturalizadas) ; *gelatina*, abundante si junto con la carne se han hervido huesos o cartílagos ; *substancias extractivas nitrogenadas* (creatinina, creatina, xantina, hipoxantina ; de los cuerpos púricos pasa al caldo la parte más soluble, la que no forma parte de los núcleos celulares de la carne ; véase la parte correspondiente al metabolismo purínico y a la gota) ; substancias extractivas no nitrogenadas (glucógeno y sus derivados de hidrólisis, si la carne ha sido muy manoseada, entre los cuales se encuentran indicios de glucosa ; ácido láctico, más abundante en la carne de los animales fatigados ; inosita) ; pequeñas *cantidades de grasa* (el exceso suele quitarse porque no es agradable) ; *sales solubles* (fosfato monopotásico, que con el ácido láctico contribuye a dar una reacción ligeramente ácida ; apenas indicios de sales de Ca y de Fe ; en el extracto de carne existiría poco cloruro sódico, pero se le añade durante la cocción, hasta un 1 %).

Un buen caldo contiene (1) :

(1) Noorden, *Ernährungslehre*, Berlín, 1920.

Agua	97	%
Substancia seca	3	»
Substancias proteinosímiles	0,3	»
Substancias extractivas nitrogenadas	0,6	»
Substancias extractivas exentas de nitrógeno	1,3	»
Grasa	0,7	»
Substancias minerales	0,5	»
Valor calorífico total de 100 gr. de caldo	13	calorías

(En las cifras del residuo seco y de los componentes minerales no está comprendido el NaCl añadido al hacer el caldo).

El valor alimenticio del caldo como aporte de material energético es, pues, mínimo, pero el caldo estimula fuertemente la función gástrica, motora y secretora, ya por un mecanismo reflejo en el sentido de PAVLOW (secreción psíquica de jugo gástrico), ya quizás por excitación química directa de la mucosa gástrica por las substancias extractivas, proteinosímiles y salinas. Además, el caldo sirve como vehículo excelente para alimentos más nutritivos: pastas alimenticias, huevos, legumbres o verduras (que frecuentemente se añaden a la carne en la olla) con su abundante contenido vitamínico y salino, etc. Nótese que la excitación directa, química, de la secreción del jugo gástrico es mucho más acentuada con extractos de carne (caldo hecho con extracto LIEBIG y otros semejantes) que con el caldo preparado con carne de la manera acostumbrada: efectivamente, aquella acción, como recientemente también ha sostenido BICKEL, es más propia de las peptonas y otros derivados proteicos que de las susbtancias extractivas y cuerpos purínicos, y precisamente los extractos de carne preparados por los métodos industriales contienen muchos productos de escisión proteica, del tipo de las peptonas, albumosas, aminoácidos, etc. Precisamente por esto, es quizás un poco mayor (v. NOORDEN) el valor calorífico de los caldos preparados con estos extractos, que el del caldo sencillo.

Es de notar el escaso contenido del caldo en cuerpos purínicos: cosa de 0,045 % por término medio, según la tabla ya citada de SCHALL-HEISLER.

Parece que algunas substancias extractivas del caldo ejercen una acción excitante sobre el corazón, los músculos voluntarios y el sistema nervioso (1).

El caldo tiene, pues, valor en la dietética de las afecciones con inapetencia, hipoacidez, hiposecreción gástrica (también en la fiebre), pero hay que evitar el llenar excesivamente el estómago con un líquido poco nutritivo, si al mismo tiempo existe dilatación e insuficiencia motriz.

En los hiperclorhídricos estaría contraindicado el caldo; sin embargo, v. NOORDEN hace notar el caprichoso comportamiento del estómago en estos casos, en los cuales a veces un caldo ligero no aumenta la secreción y la acidez gástricas.

(1) Para datos precisos, véase v. NOORDEN, obr. cit.

El caldo tiene una acción excitante sobre el peristaltismo intestinal; es útil en el estreñimiento (especialmente bien caliente, por la mañana, con el estómago vacío) y contraindicado en los estados diarreicos; puede atenuarse la acción irritante sobre el intestino añadiéndole substancias mucilaginosas, mucílago de cebada, arroz bien cocido, etc. Las substancias extractivas de la carne, y por lo tanto, el caldo, serían nocivas en la enfermedad de BASEDOW, por la acción excitante sobre el corazón y sobre el sistema nervioso vegetativo, por lo cual se aconseja el régimen vegetariano en esta enfermedad. En las afecciones renales el caldo está generalmente contraindicado, por su riqueza en substancias extractivas nitrogenadas que pueden contribuir a elevar la retención de N en la sangre: v. NOORDEN, sin embargo, no se opone a la administración de caldo en los casos sin azotemia. Por otra parte, el contenido en NaCl debe tenerse presente cuando hay retención de cloruros. En cuanto al régimen de los gotosos, véase el capítulo correspondiente.

b) CURA LÁCTEA. DIETA LÁCTEA.

Se habla de dieta láctea, cuando se emplea leche completa o leche desnatada u otros preparados de leche como alimento único (dieta láctea absoluta) o principal (régimen lácteo mitigado). Conocida ya en la época preexperimental de la medicina, la dieta láctea fué estudiada y aplicada científicamente por KARELL en 1865 como medio para lograr una dieta reducida, con leche desnatada, a dosis variable entre 600 c. c. y dos litros al día (1 litro de leche desnatada = 390 calorías) en la cura de la obesidad y de la hidropesía de origen cardíaco.

Posteriormente se ha empleado con mayor frecuencia en la cura láctea exclusiva la leche completa de vaca, a la que se puede atribuir la siguiente composición media (v. NOORDEN):

Agua	87,75	%
Substancias nitrogenadas (en gran parte proteínas)	3,50	»
Grasa	3,50	»
Lactosa	4,60	»
Cenizas	0,75	»
NaCl	0,15	»

Valor calorífico de 100 gr. = 65 calorías.

Como régimen de sustracción alimenticia o de hiponutrición se pueden emplear de 600 a 2000 c. c. de leche completa al día, correspondiente a 390-1300 calorías, con 21-70 gr. de proteínas y 0,80 a 3 gr. de NaCl (esta última cifra no es indiferente para ciertos individuos con retención de cloruros). A esta dieta láctea reducida (fuertemente insuficiente) se puede reservar el término de *cura de* KARELL aun hecha con leche completa, pero el sistema original que empleaba, a dosis mayores, la leche desnatada no es nada despreciable, ya que permite la administración de pocas calorías con una exposición menor de la

riqueza proteica del cuerpo. Desde el punto de vista energético, 1500 c. c. de leche completa corresponden a 2500 c. c. de leche desnatada, pero en los 1500 c. c. de la primera hay sólo 52 gr. de proteínas y en los 2500 de la segunda hay 75 gr. La cura de KARELL encuentra sus mejores indicaciones en las descomposiciones cardíacas agudas, en las nefritis agudas, etc.

Como régimen de equilibrio la dieta láctea exclusiva necesita dosis elevadas, por lo cual frecuentemente resulta desagradable si dura mucho tiempo ; un hombre de mediana estatura (70 kg.) y que permanece en cama necesita, si no quiere perder peso, unos 3 litros diarios de leche ; el hombre que realiza un ligero trabajo requiere por lo menos 3 litros y medio. Es necesario repartir la cantidad total en 7-8 tomas ; frecuentemente es útil en los casos en que se quiere emplear la dieta láctea severa durante tiempo, como régimen de sostenimiento, añadir nata (500 gr. de la cual producen 1500 calorías por el gran contenido en grasa) y disminuir de un modo equivalente el volumen de leche natural. Con 2 litros de leche y 250 gr. de nata se obtiene una dieta suficiente para un individuo que esté en cama. Pero en casos de este género es preferible un régimen lácteo mitigado ; la leche, como alimento exclusivo, especialmente en individuos que no están en la cama, acaba por producir algunos trastornos (estreñimiento ; diarrea, quizás producida por los productos de la fermentación intestinal de la lactosa). En muchos casos en los cuales no se tolera bien la leche sola durante largo tiempo, pueden darse en forma de leche fermentada *Kefir*, *Yogurt*.

Los regímenes lácteos *ampliados*, o mejor *mitigados*, no exclusivos, permiten, mejor que la dieta láctea severa, tratamientos largos o larguísimos con algunas variaciones y con mayor satisfacción del paciente, y además ofrecen también ventajas *químicas* en el sentido de permitir ciertas reducciones de una manera más radical. Por ejemplo, si queremos practicar un régimen severo de decloruración y no se trata de emplear una breve cura de KARELL, con dosis reducidas de leche, sino que debe durar tiempo dando la menor cantidad posible de NaCl, con los 3 litros de leche necesarios para cubrir las necesidades energéticas y proteicas administraríamos unos 4,5 gr. de NaCl. Por el contrario, con 1 litro y medio de leche, 80 gr. de harina de avena (sin sal) y 120 gr. de mantequilla, damos cerca de 64 gr. de proteínas, 2200 calorías y sólo 2,37 gr. de NaCl.

He aquí dos dietas lácteas mitigadas, con aporte energético suficiente para un individuo con trabajo ligero (no en la cama) o medio, que permiten una larga duración del tratamiento, con un volumen total no excesivamente grande, un contenido acuoso menor que en la dieta láctea exclusiva, proteínas bastante variadas y con todos los aminoácidos necesarios, una cantidad de hidratos de carbono superior a la de grasa, y NaCl en igual o menor cantidad (según v. NOORDEN).

Dieta con leche, cereales, nata, azúcar y mantequilla :

		Proteínas	Grasas	Hidratos de carbono	NaCl	
2 litros de leche	gr.	70,0	68,0	92,0	3,0	2885 Cal.
200 gr. de nata (25 % de grasa)	»	6,0	50,0	6,0	0,3	
50 gr. de harina de avena	»	7,2	3,4	33,0	0,1	
50 gr. de arroz	»	4,0	0,2	39,0	0,0	
20 gr. de azúcar	»	0,0	0,0	20,1	0,0	
80 gr. de mantequilla	»	0,6	66,0	0,4	1,0	
Totales	gr.	87,8	187,6	190,4	4,4	

Dieta con leche, cereales, pan y mantequilla :

		Proteínas	Grasas	Hidratos de carbono	NaCl	
2 litros de leche	gr.	70,0	68,0	92	3,0	3700 Cal.
50 gr. de harina de avena	»	7,2	3,4	33	0,1	
150 gr. de pan blanco (sin sal)	»	17,0	1,4	144	0,0	
20,0 gr. de mantequilla (sin sal)	»	1,4	164,0	1	0,04	
Totales	gr.	95,6	236,8	270	3,14	

También con frutas puede componerse una dieta lácteo-cereal o láctea pura, para tener un material que lastre el intestino, gran aporte mineral (y vitamínico) pero siempre escasez de NaCl. Ejemplo de dieta pobrísima en NaCl, bastante variada y gustosa : carne 100 gr. (peso en crudo, cocida a la parrilla con mantequilla y sin sal), arroz 250 gr., 2 huevos enteros, 2 yemas de huevo, 250 gr. de patatas cocidas al rescoldo, 1 litro de leche, 250 gr. de verduras (peso en crudo) crudas o cocidas sin sal, 250 gr. de pan sin sal, 150 gr. de mantequilla no salada, 500 gr. de manzanas, 100 gr. de azúcar (en la leche, con el arroz, etcétera) : esta ración contiene 102 gr. de proteínas, sólo 2,3 gr. de NaCl y 3160 calorías (1).

(1) Véase también : JÜRGENSEN *Allg. diätet. Praxis*, Berlín, 1917.

CAPÍTULO IV

El trabajo químico de la digestión
Resumen de Fisiopatología de la digestión

a) GENERALIDADES.

La digestión es un proceso de desintegración química y física de los alimentos, por el cual los constituyentes de éstos, proteínas, grasas e hidratos de carbono, son reducidos a materiales fácilmente reabsorbibles, es decir, *solubles* y fácilmente difusibles, y despojados además, como ya se ha dicho respecto a las proteínas, especialmente en el Capítulo II, de la especificidad de origen. Esta solubilización, escisión y simplificación molecular progresivas son obra de *fermentos* o *enzimas* contenidos en las secreciones de las glándulas anexas al tubo digestivo.

Todo el funcionamiento mecánico del tubo digestivo tiene por objeto facilitar el contacto entre los alimentos y las secreciones, llevando el alimento de una sección del tubo digestivo a la siguiente de manera que, coordinándose perfectamente los diversos actos químicos de la digestión, los distintos jugos actúen uno tras otro sobre la masa de los alimentos ingeridos, y finalmente regular la eliminación de los materiales no digeridos y de las secreciones utilizadas y modificadas.

Trataremos brevemente de cada una de las secreciones digestivas y de cada uno de los actos químicos de la digestión.

b) SALIVA.

Es un líquido incoloro, un poco filante, ligeramente ácido, con:

$$[H^{\cdot}] = 1{,}3 \times 10^{-7},$$

punto óptimo, según varios autores, para la acción de la *amilasa* salival (o ptialina), mientras que según las recientes investigaciones de D'ALISE (1) la reacción, a pesar de apartarse poquísimo de la neutralidad, podría ser ligeramente alcalina con más frecuencia que levemente ácida (la reacción parece estar relacionada con la caries dentaria). Peso específico = 1005 ; $\Delta = -0°,11$-$0°,28$ (es, pues, un líquido hipotónico respecto a la sangre). El hombre segrega cerca de 1 litro al día (el buey hasta 50 litros). No contiene más que unos 5-6

(1) *Arch. Scienze biol.*, vol. II, fasc. 1-2.

gramos de substancias sólidas por litro. De éstas, unos 2 gr. son sales y el resto materias orgánicas. La sal más abundante en ella es el NaCl, siguiendo después los fosfatos de K y de Na. Entre las substancias orgánicas se encuentra la *mucina*, que abunda especialmente en la secreción de las llamadas *glándulas mucosas* (las pequeñas glándulas salivales de la mucosa bucal ; en cambio se llama *serosa* a la parótida y *mixtas* a las sublinguales y submaxilares) especialmente después de la excitación simpática *(saliva simpática)*. Parece que en presencia de alimentos duros y secos se segrega una saliva más rica en mucina para hacerlos más resbaladizos ; en presencia de alimentos salados o ácidos tiene lugar una secreción más serosa y flúida, como la provocada por la irritación de la cuerda del tímpano, a propósito para una abundante dilución. En la saliva del hombre y del perro existe un componente especial que falta en la de los herbívoros : el *sulfocianuro potásico* (KCNS), al cual debe la saliva la propiedad de tomar color rojo con las sales férricas, y cuyo origen y funciones son desconocidos. Algunos suponen que sirve para hinchar las proteínas alimenticias, por la conocida acción imbibente de esta sal (SCHADE). Además de indicios de oxidasas, de origen leucocitario (por la emigración de leucocitos a través de las mucosas bucal y faríngea ; se encuentran leucocitos en la saliva), la saliva contiene esencialmente una amilasa *(ptialina)* ; a esta enzima se debe la rápida acción sacarificante de la saliva sobre el almidón cocido y la más lenta sobre el almidón crudo. Parece que las amilasas en general, y particularmente la ptialina, son el resultado de dos enzimas asociadas : una que despolimeriza al polisacárido (almidón) hasta dextrina, y otra *(dextrinasa)* que desintegra la dextrina en maltosa ; según las nuevas ideas acerca de la composición de los polisacáridos la primera enzima activaría la escisión (no hidrolítica) en diamilosa y la segunda desintegraría la diamilosa en maltosa. A pesar de que la maltosa es el término principal de la acción digestiva de la salina sobre los almidones, parece que se forma también una pequeña cantidad de glucosa. Un exceso de iones H inhibe esta acción, quizás sin destruir inmediatamente el fermento.

A pesar de la acción inhibidora de la reacción ácida, la digestión de las materias amiláceas por efecto de la ptialina *continúa* durante algún tiempo en el estómago, en el cual las primeras porciones de HCl segregado son fijadas por las proteínas alimenticias y donde, por otra parte, los alimentos se disponen en capas a medida que van llegando, de manera que los últimos que entran son los más internos y separados de la acción del jugo gástrico. Quizás en los estómagos dilatados, en los cuales no se realiza bien la estratificación normal, y en aquellos estómagos hiperácidos dotados también de hipermotilidad, es en los que la reacción llega pronto a una acidez incompatible con la acción de la ptialina o la estratificación es rápidamente destruída y acaba pronto el verdadero *período amilolítico* de la digestión gástrica por acción de la amilasa salival. Pero las relaciones son muy complejas y difíciles de estudiar porque el almidón que no es atacado por la ptialina

puede serlo después por la amilasa pancreática y, por lo tanto, será bien utilizado y no aparecerá en las heces.

c) Digestión gástrica.

El *jugo gástrico*, segregado en la cantidad de unos 600 c. c. para una comida corriente y de 1 litro y medio aproximadamente en las 24 horas, tiene como constituyentes específicos más importantes la *pepsina*, que es una proteasa, y el *ácido clorhídrico;* además contiene el *fermento-lab* o *quimasa* y una *lipasa* (lipasa gástrica de Volhard).

La *pepsina* es una proteína que actúa en reacción ácida, correspondiendo su punto óptimo a $[H^+] = 1{,}7 - 2 \cdot 10^{-2}$ en ácido clorhídrico. Se puede conseguir relativamente pura por diálisis del jugo gástrico obtenido de un perro con fístula gástrica; a algunos les pareció que tenía la naturaleza de un núcleoproteido. Los álcalis la inactivan primero y luego la destruyen, pero es más resistente a los álcalis si está ya unida a un substrato proteico. La pepsina es producida por las glándulas pilóricas y por las células principales o adelomorfas de las glándulas del fondo. La pepsina, en presencia de la acidez necesaria en HCl (por lo tanto en la forma llamada *pepsina clorhídrica)* ataca las proteínas, disolviéndolas si son sólidas y escindiéndolas en albumosas primero y en peptonas después. La pepsina se une al substrato proteico sobre el que ejerce su acción: puede ser, por ejemplo, *sustraída* o extraída, por decirlo así, de una mezcla por medio de la elastina u otro material proteico que la fija (adsorción ?). El ácido clorhídrico parece necesario sobre todo al principio: para la hinchazón y disolución de las proteínas; luego se realiza el ataque hidrolítico de éstas, el cual puede irse desarrollando también por la sola acción del ácido a la concentración del 2-3 por 1000; la pepsina, pues, no hace más que acelerar esta escisión como un verdadero catalizador.

El ácido clorhídrico, que es segregado por las células accesorias o delomorfas de las glándulas del fondo, existe en el jugo puro obtenido del perro (por fístula durante una comida ficticia) en la concentración de 4,5-5,8 por 1000, y en el jugo mezclado con los alimentos (contenido gástrico global durante la digestión) en la concentración aproximada de un 3 por 1000. En el hombre, en el cual los casos con fístula son sólo patológicos y generalmente se extrae el contenido gástrico después de una *comida de prueba*, se encuentran valores de 1,5-2,25 por 1000 en la plenitud de la digestión. La acidez iónica (o reacción actual) medida electrométricamente da valores de $[H^+]$ no muy apartados de los que se consideran como óptimos para la acción de la pepsina: después de una comida de Ewald se encuentran valores normales de $1{,}7 \cdot 10^{-2}$, y para los hiper o hipoclorhídricos, valores de $3 \cdot 10^{-2}$ o de $0{,}8 \cdot 10^{-2}$ como extremos (1). Estos valores corresponden aproximadamente a los del HCl libre, ya que el HCl combinado con las proteínas

(1) C. Foá, *Arch. di Fisiol.*, vol. III, 1906; Michaelis y Davidsohn, *Zeitschr. f. exper. Pathol. u Ther.*, vol. VIII, 1910; *Biochem. Zeitschr.*, vol. LXXIN, 1917.

y sus derivados disocia pocos iones H. Los modernos métodos simplificados (con la serie especial de indicadores de Michaelis, de Sörensen, etc.) para la determinación de la reacción actual pueden prestar excelentes servicios en clínica sustituyendo a los métodos empíricos de determinación del HCl libre. El reactivo de Günzburg (página 319) da resultados concordantes con los obtenidos por la determinación electrométrica (Mathews).

La pepsina clorhídrica no rompe el enlace carboamínico que existe en los polipéptidos sintéticos, por lo cual no es activa respecto a éstos ni respecto a las protaminas que probablemente sólo tienen la unión citada. La pepsina clorhídrica, sin embargo, ataca a muchísimas proteínas, casi a todas, *excepto la mucina y la queratina*, y las transforma en albumosas y peptonas (1) sin dividirlas posteriormente en aminoácidos. Debemos admitir, pues, que en las proteínas los compuestos de aminoácidos del tipo de los polipéptidos que constituyen las peptonas y las albumosas, están asociados por medio de un enlace aún desconocido, para formar el gigantesco edificio de la molécula proteica; la pepsina clorhídrica ataca y disuelve esta unión que no conocemos todavía y libera los polipéptidos o mezclas de polipéptidos, aun bastante complejos, que constituyen las albumosas y las peptonas, con lo cual va perdiéndose progresivamente el carácter coloidal. El tejido colágeno, la elastina y la gelatina son rápidamente atacadas. También es atacada, lentamente, sin embargo, la condrina de los cartílagos. Vemos, pues, que en el estómago resisten al ataque los pelos y demás formaciones queratinizadas, que los cartílagos se disuelven lentamente y que la carne se disgrega rápidamente, por la disolución del conjuntivo que mantiene unidas las fibras musculares; el estómago produce un verdadero desmenuzamiento químico de los alimentos cárneos. Una vez liberadas del tejido conjuntivo, las fibras musculares son también atacadas. Pero mientras para la digestión de las proteínas musculares y celulares en general, otros jugos, como el pancreático, pueden completar el trabajo del estómago, para la digestión del conjuntivo no hay refuerzo o derivación posible; esta idea debe tenerse presente para las prescripciones dietéticas.

Sahli ha propuesto utilizar el hecho de que sólo el estómago digiere el tejido conjuntivo para practicar lo que él llama la *reacción desmoide;* se hacen ingerir unas cápsulas formadas por una membrana de goma, llenas de azul de metileno, de yodoformo o de ambos, atadas con catgut, que no es más que tejido conjuntivo; después se investiga el yodo en la saliva (como en el método de las cápsulas de glutoide; véase más adelante) o en la orina (añadir un poco de cloroformo y H_2SO_4 diluído, y luego, gota a gota, solución de nitrito sódico al 1 %; agitando después, el yodo que se ha separado se disuelve en

(1) El primer peldaño de la transformación de las proteínas por acción del jugo gástrico se describe con el nombre de *sintonina*, que no es más que la acidalbúmina que se forma siempre por la acción de los ácidos sobre las proteínas.

el cloroformo, que toma un color rosáceo-violado) ; también puede vigilarse la aparición del azul de metileno en la orina (que es verde o adquiere este color por la ebullición, después de haberle añadido ácido acético). Normalmente las reacciones son positivas antes de las 24 horas de la ingestión : si no lo son es señal de que la digestión gástrica no ha atacado el catgut, como debería normalmente y, por lo tanto, que existe un estado de hipoquilia o un vaciado excesivamente rápido del estómago.

La digestión gástrica no ataca los núcleos ; por la acción muy prolongada de la pepsina clorhídrica pueden, sin embargo, ser desdoblados los núcleoproteidos con liberación de ácido nucleínico que, sin embargo, no es escindido ulteriormente.

Recordemos que la gelatina formolizada resiste la digestión gástrica durante algunas horas ; las cápsulas constituídas por esta substancia pasan generalmente intactas por el estómago y se digieren en el intestino : ésta es la base de algunos métodos de diagnóstico para estudiar la función proteolítica y la absorción en el intestino, así como la motilidad gástrica, mediante la ingestión de cápsulas de gelatina formolizada, llenas de materias fácilmente absorbibles en el duodeno y bien demostrables en la saliva o en la orina (yodoformo o salol) y destinadas a disolverse apenas se mezclan con el contenido intestinal (cápsulas de glutoide) (1).

El ácido clorhídrico se encuentra en forma de solución (igual como en el agua pura) en el jugo obtenido de una fístula después de la comida ficticia o en el procedente de un estómago de Pavlow ; en cambio, en el contenido gástrico, por ejemplo, en el recogido con la sonda después de una comida de prueba, se encuentra (prescindiendo del que se halla en estado de sales neutras, como cloruros alcalinos, etc.) en dos formas : *libre*, susceptible de ser extraído en el vacío a temperatura ordinaria, como de una solución cualquiera de HCl, y *combinado lábilmente*, de tal modo que no se evapora en el vacío, pues está como adherido a algún componente de la mezcla, que se sabe que son las proteínas o peptonas, con las que forma complejos siempre ácidos o que a lo menos reaccionan como tales con algunos indicadores.

La *acidez total* del contenido gástrico es la suma del ácido clorhídrico libre y del combinado. Cuando valoramos, como se hace comúnmente, el contenido gástrico con una solución decinormal de sosa en presencia de fenolftaleína o de tintura de tornasol, obtenemos la *acidez*

(1) Según Sahli, las cápsulas de glutoide que contienen 0,15 de yodoformo, administradas después de una comida de Ewald, determinan normalmente la presencia de yodo en la saliva al cabo de 4-6 horas. El yodo se reconoce de la siguiente manera : se añade engrudo de almidón a la saliva, luego, con cuidado, un poco de ácido sulfúrico diluído y, gota a gota, una solución al 1 % de nitrito sódico : aparece un color azul debido al producto de la reacción del yodo libre con el almidón. En un tiempo aproximadamente igual aparece la reacción del ácido salicílico en la orina, si las cápsulas contenían salol. Si el vaciado del estómago sufre retraso o está alterado el quimismo intestinal (reducción de la actividad tripsica) y también si la absorción está dificultada, hay retardo en la aparición de estas substancias.

total; la sosa (NaOH) se combina primero con el HCl libre y, una vez saturado éste, separa el unido lábilmente con las proteínas de su combinación con ellas. Pero, en esta mezcla de HCl con albuminoides y derivados proteicos, los resultados, que únicamente son aproximados, varían según los indicadores : así, mientras la fenolftaleína y el tornasol dan la acidez total, o sea que no viran hasta que *todo* el HCl presente ha sido neutralizado por la sosa, otros, como la tropeolina, el anaranjado de metilo (reactivo de Töpfer), el violeta de metilo, el rojo Congo (papel de rojo Congo que se vuelve azul con HCl libre) y el *reactivo de* Günzburg (1), indican sólo el HCl libre, o sea que sólo tienen el color propio de la reacción ácida mientras existe HCl no unido por enlaces lábiles con las proteínas o derivados proteicos.

Cuando los alimentos llegan al estómago y las primeras porciones del jugo gástrico segregado se mezclan con ellos, el ácido clorhídrico se combina inmediata y totalmente con las proteínas : la reacción es ácida al tornasol, pero negativa con el Günzburg, el rojo Congo o el metilvioleta. Luego, aumentando la secreción y por lo tanto la cantidad de HCl, queda también algo de éste libre, y en efecto la reacción de Günzburg debe ser claramente positiva y la acidez total ha de corresponder aproximadamente a 40-60 grados de acidez (2) en el contenido gástrico extraído en plena digestión de una comida de prueba, si los fenómenos de la digestión gástrica se desarrollan normalmente.

Es necesario tener en cuenta la naturaleza de la comida y el tiempo transcurrido desde su ingestión ; si la comida es la de Ewald, ligera, para saturar las proteínas y sus derivados y dar un exceso de HCl libre revelable por medio del Günzburg o con el violeta de metilo

(1) *Reactivo de* Günzburg : 2 gr. de floroglucina y 1 gr. de vainillina disueltas en 30 gr. de alcohol absoluto. La reacción se efectúa de la manera siguiente : 10 gotas de contenido gástrico se colocan en el fondo de una cápsula de porcelana, se añaden 2-3 gotas del reactivo y se calienta sobre una llama pequeña, agitando y soplando para evitar la carbonización. Si existe HCl u otro ácido mineral libre, se obtiene una coloración rojo de cinabrio. Se puede operar (Mathews) de manera que se obtengan resultados aproximadamente cuantitativos.

(2) Pueden seguirse dos procedimientos para expresar la acidez total : uno es calcularla en HCl, aun sabiendo que puede ser debida en parte a ciertos ácidos orgánicos, especialmente en un contenido gástrico patológico ; el otro consiste sencillamente en dar el número de centímetros cúbicos de NaOH $\frac{n}{10}$ que han sido necesarios para neutralizar, usando la fenolftaleína como indicador, 100 c. c. del material que se analiza, número que representa los *grados de acidez* según Jaworski. Si para neutralizar 10 c. c. de un contenido gástrico se requieren 5 c. c. de NaOH $\frac{n}{10}$, podremos establecer los cálculos de las dos maneras siguientes : 1.ª Sabemos que 1 c. c. de NaOH $\frac{n}{10}$ es exactamente neutralizado por 1 c. c. de HCl $\frac{n}{10}$ 0,00365 gr. de HCl ; 5 c. c. de NaOH $\frac{n}{10}$ equivaldrán, pues, a $5 \times 0{,}00365 = 0{,}01825$ gr. de HCl existentes en 10 c. c. de contenido gástrico ; 100 c. c. de este contenido poseerán $10 \times 0{,}01825 = 0{,}1825$ gr. de HCl ; la acidez en cuestión será de 0,1825 % en HCl. 2.ª Si 10 c. c. de contenido son neutralizados por 5 c. c. de NaOH $\frac{n}{10}$, 100 c. c. de contenido lo serían por 50 c. c. de NaOH $\frac{n}{10}$; la acidez es, pues, de 50 grados.

bastará una secreción de HCl mucho menor que la que es necesaria después de una comida bastante abundante, como la de LEUBE. Por otra parte, está perfectamente probado que a medida que se va realizando la escisión proteica cada vez se fija mayor cantidad de HCl, como si los productos desintegrativos combinasen mayor cantidad de ácido que los albuminoides originales ; es, pues, posible que luego de aparecer la reacción positiva del HCl libre, vuelva a desaparecer. También las diferencias de motilidad del estómago, con la expulsión más o menos rápida de su contenido, pueden reflejarse en los valores de la acidez del contenido.

Obsérvese que las distintas reacciones del HCl libre no concuerdan exactamente en cuanto a sensibilidad.

En la práctica la evaluación del poder secretorio del estómago es una de las tareas más difíciles ; no hay un paralelismo exacto entre los trastornos de la secreción de HCl y los de la secreción de la pepsina : estos últimos son muy poco conocidos. En cuanto al HCl hay que tener especialmente en cuenta la neutralización debida a los álcalis de la saliva y del moco, que alguna vez puede ser importante (con formación de cloruros alcalinos y alcalino-térreos : éste sería el HCl *combinado de manera estable) ;* además, para evaluar la cantidad de HCl *libre* es necesario tener en cuenta el hecho de que los alimentos están dispuestos en el estómago por capas sucesivas y que el jugo gástrico los imbibe cada vez en menor cantidad desde las paredes del estómago hacia el centro : cuando se extrae con la sonda una pequeña cantidad de una comida de prueba abundante, obtenemos una muestra tomada a ciegas, con distinto valor según el punto en que se tome. No está demostrado que, en condiciones patológicas, pueda existir una hiperclorhidria verdadera, en el sentido de que la cantidad segregada de jugo gástrico sea normal pero posea una concentración mayor de HCl ; es más probable que la composición del jugo gástrico sea muy constante, como asimismo la concentración del HCl, y que solamente varíe la cantidad de secreción. Parece, pues, que la llamada hiperclorhidria es siempre una hipersecreción, variando solamente el tiempo y el grado (continua o periódica ; por estímulo alimenticio o no ; etc.).

El jugo gástrico contiene solamente un 3 % de materias sólidas (enzimas, sales, etc.) ; el resto es agua que procede de la sangre. BICKEL (1) observó, en una enferma con fístula gástrica, que la secreción gástrica se reduce mucho si no se da de beber y si se disminuye el agua de la sangre y de los tejidos. También el cloro es extraído de la sangre : casi dos terceras partes del Cl de la sangre pasan al estómago diariamente. Podría pues admitirse que, reduciendo el Cl de la dieta (dieta aclorurada) o cuando hay grandes pérdidas de Cl por otras vías (sudoración intensa, vómitos incoercibles), debe disminuir la secreción del HCl : así sucede realmente en muchos casos, aun cuando frecuentemente el organismo procura, como compensación, reducir las pérdidas de Cl por vía renal, economizando así sus reservas de Cl ; el excesivo dispendio de Cl se evita hasta en las condiciones fisiológicas normales, pues el organismo reabsorbe en el intestino el Cl que ha segregado en el estómago (circulación interna del Cl).

(1) *Kongr. f. inn. Med.*, 1906.

El mecanismo por el cual de la sangre, líquido neutro, se forma una secreción tan ácida como el jugo gástrico, es aún mal conocido ; quizás intervienen fenómenos de *hidrólisis por membrana* y de *permeabilidad electiva* para ciertos iones. En el reino animal el fenómeno se repite en la saliva de un molusco, el *Dolium galea*, que contiene una enorme cantidad de H_2SO_4 ; en este caso se trata de la capacidad selectiva más compleja propia de células especializadas. MATHEWS sostiene que no hay una secreción de HCl libre, sino que se segregaría un cloruro de base débil, quizás cloruro amónico, que en el interior de las glándulas sería disociado hidrolíticamente, en cuyo caso la base, por ejemplo NH_3, sería *reabsorbida* (en realidad la mucosa gástrica es muy rica en NH_3) y el HCl *permanecería* en la secreción.

El jugo gástrico contiene también el *fermento lab*, segregado especialmente por la mucosa gástrica de los animales jóvenes ; algunos lo consideran idéntico a la pepsina. Sin embargo, la concentración de iones H óptima para este fermento es menor que la indicada para la pepsina. Es segregado por las mismas células que la pepsina. Como ya hemos indicado en otro lugar (Cap. I, *e*), la coagulación de la leche en el estómago tiene la significación de una escisión inicial de la caseína.

La ventaja de que la leche se coagule en el estómago consiste en la sustitución de una masa líquida por un coágulo ligero, poco voluminoso, poroso, fuertemente adsorbente para la pepsina clorhídrica y, por lo tanto, muy atacable. La grasa de la leche queda incluída en el coágulo y permanece con éste largo tiempo en el estómago, mientras que el suero pasa rápidamente al duodeno.

La *lipasa gástrica* es segregada por las glándulas del estómago ; algunos niegan su existencia y consideran la acción sobre las grasas como debida a la lipasa pancreática que refluye del duodeno. La lipasa gástrica, sin embargo, no es activada por la bilis : he aquí una diferencia con la pancreática. Según C. FOÁ (1) obraría solamente sobre los lipoides del huevo y sobre la tributirina, pero no sobre las grasas superiores. Algunos herbívoros (y también el cerdo) segregan en la región del cardias pequeñas cantidades de una *amilasa*.

La secreción gástrica se desarrolla, principalmente, en conexión con la llegada de los alimentos, entrando en juego tres clases de estímulos : 1.° Los de vía nerviosa, que no podemos estudiar aquí, que establecen una perfecta adaptación entre la naturaleza de los alimentos, la abundancia de la secreción y quizás su composición misma (mayor o menor contenido en enzimas y ácido), y sirven también para mantener el *ritmo* de la secreción (BICKEL ha observado que, cortando todos los

(1) *Arch. di Fisiol.*, vol. XII, 1914.

nervios que van a parar al estómago, éste segrega de una manera continua). Son ya muy conocidos los estudios de la escuela de PAVLOW acerca de la secreción psíquica del jugo gástrico, sobre los reflejos condicionados relativos a la secreción gástrica y sobre otros puntos que pueden encontrar también aplicación a hechos de observación clínica. 2.° Los directos sobre la mucosa : si el estímulo es solamente de orden mecánico, resulta siempre poco activo ; a nosotros nos interesan principalmente los químicos, a los que solamente es sensible la región pilórica del estómago. Se trata de una acción excitante, que tienen principalmente las substancias extractivas de la carne, las peptonas, el alcohol, ciertos ácidos orgánicos débiles, las levaduras, la misma saliva y la bilis. Se comprende así cómo los alimentos (y en particular algunos de ellos, como los cárneos) al llegar al estómago excitan la secreción, que además es algo diversa según sean sus cualidades respectivas : el pan parece provocar la formación de un jugo más rico en pepsina, mientras que la carne hace segregar un jugo bastante más abundante que el pan pero menos rico en pepsina. La grasa tiene acción inhibidora, pero no mientras se halla en el estómago, sino apenas llega al duodeno ; el HCl, cuando llega más allá del píloro (que entonces se cierra) ejerce también un efecto inhibidor sobre la secreción gástrica. El cacao y las altas dosis de azúcar también son inhibidoras. El hecho de que la mucosa pilórica sea especialmente sensible a estos estímulos químicos directos es aprovechado por los cirujanos cuando extirpan esta porción y practican la gastroenterostomía en casos de hipersecreción e hiperacidez con o sin úlcera : por la intervención quirúrgica suprimen el punto sensible a los estímulos secretores de origen alimenticio. Finalmente tenemos : 3.° Los estímulos hormónicos, que llegan a las glándulas gástricas por medio de la sangre. Así BICKEL ha encontrado que las mucosas pilórica y duodenal y también algunos alimentos vegetales (espinacas) contienen una substancia soluble en alcohol que, inyectada en el sistema circulatorio, posee una fuerte acción excito-secretora ; otros autores han encontrado en diversos tejidos substancias dotadas de esta misma función. Parece tratarse de *secretinas gástricas* o *gastrinas*, que algunos tienden a identificar con la histamina o β-imidazol-etilamina, la amina biógena de la cual ya hemos hablado en la Primera parte (Cap. VII, *l*), que está muy difundida por los tejidos por ser un producto de desintegración proteica. Está probado que las *gastrinas* parecen tener naturaleza básica, son extraíbles por los ácidos en caliente, son termostábiles y tienen alguna propiedad común con la secretina duodenal (1). Recuérdese que las hormonas hipofisarias *(pars intermedia)* probablemente también tienen una estructura parecida a la histamina. Véase como la secreción gástrica puede ser extensamente influenciada por vía hormónica gracias a diversos órganos, y quizás depende íntimamente de la situación endocrina general del organismo.

(1) KEETON y KOCH, *Amer, Journ. of Physiol.*, 1915.

En el contenido gástrico puede encontrarse, como constituyentes anormales, fermentos del tipo de las *peptasas ;* así como la pepsina del jugo normal sólo ataca las proteínas hasta convertirlas en peptonas y no libera aminoácidos, en el contenido gástrico de los enfermos de cáncer ulcerado del estómago se pueden reconocer fermentos peptolíticos, es decir, que atacan las peptonas y polipéptidos y liberan aminoácidos. En esto se funda la *prueba de* NEUBAUER y FISCHER con el gliciltriptófano, que en los casos de cáncer sería atacado y dejaría triptófano libre, reconocible por la reacción con el bromo. Sin embargo el valor clínico de esta prueba es muy escaso, porque la sangre contiene también peptasas y da reacción positiva y, precisamente, cuando se trata de establecer el diagnóstico diferencial entre un cáncer y una úlcera, casi siempre hay sangre en el contenido gástrico. Debe considerarse como anormal la presencia de ácido láctico, que proviene de la fermentación láctica de los hidratos de carbono alimenticios (1) ; por la misma razón pueden encontrarse también otros ácidos orgánicos (butírico, etc.). En los perros que han ingerido una comida a base de huesos se puede encontrar fosfato ácido de calcio, debido a la acción del HCl sobre el fosfato tricálcico de los huesos.

El objeto de la digestión gástrica es, esencialmente, el fraccionamiento químico de los alimentos ya citados con anterioridad, que por decirlo así sigue a la trituración mecánica obtenida por el trabajo de los dientes. En realidad el jugo gástrico ha de disolver las *substancias cementantes* de los diversos alimentos, a fin de que éstos lleguen al intestino en forma de papilla, y sean incapaces de irritarlo mecánicamente. Así, el estómago disuelve el tejido conectivo *(desmolisis)* y libera unas de otras las fibras musculares de la carne ; además, éstas son digeridas luego, pero no en más de un 30-40 % : el resto de la función digestiva se realiza en el intestino. El estómago digiere el *gluten*, la proteína que da consistencia a la masa del pan : por lo tanto éste también es transformado en papilla fina. Respecto a los vegetales y a la fruta, el estómago actúa disolviendo (por la sola acción del HCl, sin que en

(1) Reconocimiento del ácido láctico : no tiene otro valor sino el de probar la existencia de fermentaciones anormales, como expresión de hipoacidez, hipoquilia o aquilia (secreción escasa o nula), motilidad deficiente y estancamiento de los alimentos con desarrollo abundante de los gérmenes de la fermentación láctica Por lo general se practica con el reactivo de UFFELMANN : solución al 1-2 % de ácido fénico tratada con solución diluída de cloruro férrico hasta obtener una coloración violetaamatista ; el ácido láctico (igual como otros ácidos orgánicos) produce con este reactivo una coloración amarilla. Se toman algunos centímetros cúbicos de contenido gástrico filtrado y se les añade el reactivo, preparado en aquel instante y de concentración tal que tenga un hermoso color de amatista y sea bien transparente. La reacción se debe a la formación de un lactato de hierro, amarillo ; el verdadero reactivo es, pues, el cloruro férrico (*liquor ferri sesquiclorati* ; solución oficinal de percloruro de hierro) ; el ácido fénico sirve sólo para dar un contraste de coloraciones, bien marcado. Otros oxiácidos dan también esta reacción ; varios cuerpos la simulan más o menos ; los ácidos minerales decoloran directamente el reactivo, de donde se deduce que en presencia de ácido clorhídrico abundante, es difícil lograr una reacción bien clara. En general es aconsejable extraer el ácido láctico con éter, evaporar, tratar el residuo con agua y practicar la reacción con el líquido resultante.

ello intervenga el fermento) las substancias *pécticas* y la *hemicelulosa* que cementan las células vegetales entre sí, mientras que no ataca o sólo altera poco las paredes de las células, constituídas realmente por celulosa ; en este caso también se observa la acción fragmentadora por vía química. Así se explica que la insuficiencia de la función gástrica (por anacidez y aquilia o por un vaciado demasiado rápido) se revele, como especialmente ha demostrado A. SCHMIDT, por la presencia abundante de tejido conectivo y de restos groseros de verduras y legumbres en las heces. Se comprende también porque en los casos de insuficiencia funcional del estómago, una preparación adecuada de los alimentos puede prestar grandes servicios, pues al ser sometidos a influencias mecánicas (trituración, golpeado de la carne y de ciertas verduras) y químicas (cocción prolongada) se inicia la ruptura y la disolución de substancias cementantes, que se realizarían incompletamente en el estómago enfermo.

Hay que citar también la función antiséptica del HCl gástrico : en casos de hipoclorhidria pueden llegar al intestino gérmenes anormales, que de ordinario no se encuentran en él y que pueden modificar su flora normal, en sentido a veces perjudicial ; igualmente pueden llegar al intestino gérmenes declaradamente *patógenos*.

No nos extenderemos sobre la función absorbente del estómago : se admite que en él se produce una absorción limitada de azúcar, peptonas y sales pero no de agua, y parece que se realiza *sólo por ósmosis*, sin la selectividad característica de la absorción intestinal. En efecto : estas substancias son absorbidas de un modo proporcional a sus concentraciones respectivas. El alcohol también es absorbido. Sobre la importancia de la absorción gástrica hay datos muy contradictorios : LONDON y sus colaboradores (1) la han negado para las peptonas y otros productos nitrogenados, mientras que FOLIN y LYMAN (2) dicen haber demostrado la absorción de peptonas, urea, aminoácidos y creatinina. Es probable que en muchas investigaciones experimentales la mucosa gástrica no se haya encontrado en condiciones de normalidad perfecta y haya ofrecido una permeabilidad anormal.

En ciertos casos el estómago, igual como el duodeno, puede segregar y verter en su interior substancias anormales que circulen con la sangre : en un antiguo experimento de CLAUDIO BERNARD se estudiaba la formación de azul de Prusia en las glándulas y en la mucosa del estómago como consecuencia de la inyección intravenosa y separada de ferrocianuro potásico y de lactato de hierro ; este experimento ha sido repetido y utilizado por algunos (v. MATHEWS) para estudiar la reacción de la mucosa. Recientemente GLAESSNER y WITTGENSTEIN (3) han visto que el rojo neutro administrado al hombre en inyección intramuscular se elimina por vía gástrica, hecho que es el fundamento de un nuevo método de diagnóstico funcional que ellos proponen.

(1) *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. LXII, pág. 448.
(2) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XII, pág. 259.
(3) *Wiener Klin. Woch.*, 1923, n.° 45.

Una vez ha pasado el píloro, el HCl gástrico tiene acción excito-secretora sobre el páncreas y quizá acción excitante de la secreción de la bilis. Nótese la maravillosa coordinación que existe entre la función gástrica y la intestinal : cuando el HCl llega a estimular la mucosa duodenal, desarrolla en seguida una acción inhibidora sobre la ulterior secreción gástrica y determina por vía refleja el cierre del píloro. Así se impide la penetración excesiva de ácido en el intestino, pero al mismo tiempo el ácido excita la secreción del jugo duodenal alcalino que debe neutralizarlo y continuar después la ulterior escisión hidrolítica de los materiales alimenticios.

La mucosa gástrica normal resiste a la acción digestiva del jugo gástrico, quizá por la presencia de antipepsinas, por la alcalinidad del moco y por causas todavía oscuras a las que se debe la inatacabilidad de las células *vivas* por muchos fermentos. Pero si la mucosa sufre una lesión cualquiera, sea ésta de orden mecánico o debida a trastornos circulatorios o a agentes infecciosos, experimenta una verdadera digestión aún *in vivo*, se necrosa y se produce una úlcera pépsica.

d) QUIMISMO INTESTINAL.

1.° *Jugo pancreático.* — El excitante normal de la secreción es el ácido clorhídrico del quimo, que llega al duodeno a través del píloro. Introduciéndo en el duodeno HCl convenientemente diluído, se obtiene también una abundante secreción de jugo pancreático (jugo de ácido) que en el perro puede recogerse por medio de una fístula duodenal ; igualmente puede obtenerse con otros ácidos, aun orgánicos ; parece, pues, que se trata de una acción genérica de los ácidos. En otro tiempo se atribuía a un mecanismo puramente nervioso, de naturaleza refleja, pero después de las clásicas investigaciones de BAYLISS y STARLING, sabemos que se trata de un mecanismo químico ; en efecto, macerando la mucosa duodenal o duodeno-yeyunal con HCl diluído e inyectando, previa neutralización, el extracto en las venas de animales con fístula duodenal, se ha visto aparecer rápidamente una secreción de jugo pancreático, del todo igual al jugo segregado por la acción de ácidos sobre el duodeno. Los autores ingleses creían que en la mucosa duodenal existía una substancia *(prosecretina)* que el ácido transformaba en un principio activo, verdadera hormona, llamado *secretina*, que entraba en la circulación y por vía hemática llegaba a excitar la secreción de las células de los acinis pancreáticos. Pero más tarde se ha comprobado que, además de los ácidos, también pueden extraer el principio activo de la mucosa los jabones, el cloral, el agua caliente (100°) y las soluciones salinas concentradas, por lo que parece que la hormona existe ya en la mucosa y es extraíble por varios medios, o bien que la prehormona puede transformarse en hormona por la acción de todos los agentes dichos y no por la sola acción de los ácidos. Esta hormona no es de naturaleza proteica, es lentamente dializable y termoestábil ; pertenece seguramente a la categoría de

las aminas proteinógenas, como la secretina gástrica y otras horonas. Según Popielski (1) la secretina sería idéntica a su *vasodilatina*, un principio no específico de la mucosa duodenal, sino presente en todo el tubo intestinal y también en otros órganos. También en este caso se han querido encontrar relaciones con la histamina, pero mientras que la acción de esta base es inhibida por la atropina, la secretina no lo es. Parece que el hombre segrega unos 700 c. c. de jugo pancreático al día. Este jugo es límpido, un poco filante y posee la alcalinidad de una solución $\frac{n}{10}$ de bicarbonato sódico; Auerbach y Pick (2) determinaron electrométricamente el valor de $[H^{\cdot}]$ en el jugo imtestinal y pancreático del perro con fístula, obteniendo $0{,}2 \cdot 10^{-8}$ y $5 \cdot 10^{-8}$, o sea un grado de alcalinidad inferior a los admitidos primitivamente tomando como base las valoraciones volumétricas. Es ligeramente hipotónico respecto a la sangre. Contiene un poco más del 1 % de substancias sólidas, casi la mitad de las cuales están constituídas por sales (carbonato sódico) y el resto por proteínas (mucina), lecitina, núcleoproteidos y fermentos.

Los fermentos principales son : una proteasa *(tripsina)*, una lipasa *(esteapsina)* y una amilasa *(amilopsina)*.

Se ha descrito también una *maltasa* (que escinde la maltosa en glucosa) ; también se ha supuesto la presencia de peptasas y una función de quimasa o de lab, esto es, una acción coagulante de la leche, que, sin embargo, parece debida a la tripsina misma, ya que todas las enzimas proteolíticas tienen una acción más o menos semejante.

La *tripsina* es considerada actualmente por algunos como un verdadero sistema de enzimas, algunas de las cuales obran sobre las proteínas genuínas (verdaderas proteasas) y otras sobre sus primeros productos de escisión, sobre las peptonas (peptasas), para desintegrarlos hasta aminoácidos.

Si preparamos un extracto de páncreas, encontraremos en él fermentos *del tejido* (autolíticos) junto con el verdadero o los verdaderos fermentos *segregados* ; para describir, pues, la acción de la tripsina pura, es decir de la enzima proteolítica o del sistema de enzimas proteolíticas verdaderamente segregadas por el páncreas, es necesario obtener el jugo por medio de una fístula pancreática, excitando eventualmente la secreción con HCl o con secretina. Pero si ensayamos la acción de este jugo sobre la albúmina de huevo cocida, como se hace generalmente para estudiar la proteolisis, veremos que es inactivo y solamente puede ser activado mediante algunas adiciones. Estas son : principalmente el jugo intestinal, eficaz aun en pequeñísima cantidad, tanto que basta que los labios de la fístula pancreática estén bañados por el jugo intestinal para que el líquido de la fístula sea activo ; además las sales de Ca, y quizás también los extractos leucocitarios. Según

(1) *Centr. f. Phys.*, vol. XXIV; *Pflüger's Arch. f. d. ges. Physiol.*, vol. CXXVIII.
(2) *Arb. a. d. K. Gesundheitsamte*, vol. XLIII, 1912.

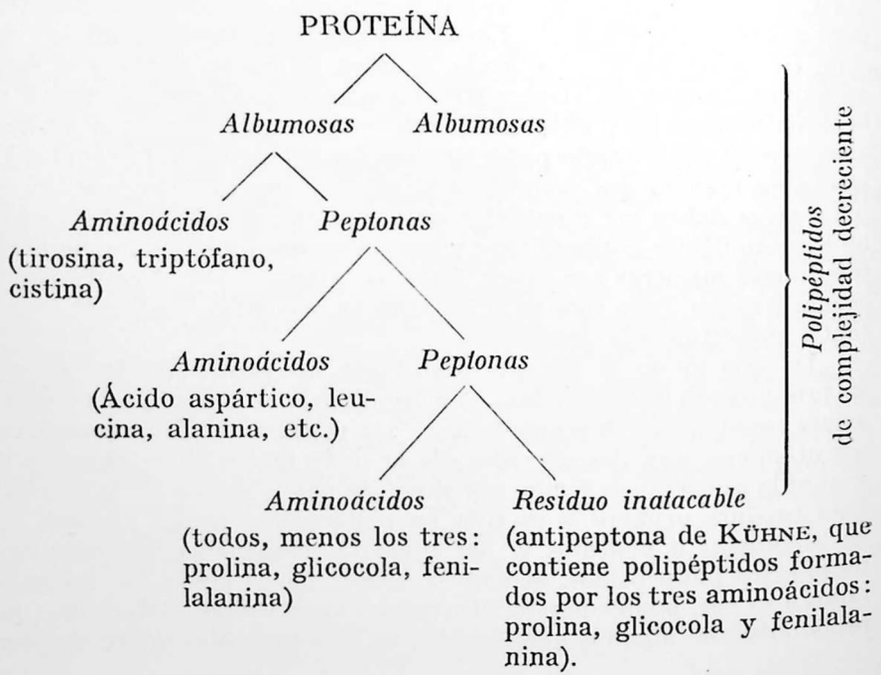
la opinión corriente, en el jugo intestinal existe una quinasa, llamada *enteroquinasa*, que transformaría el profermento (tripsinógeno) inactivo, contenido en el jugo pancreático puro, en tripsina o fermento activo. También se ha considerado el agente activante contenido en el jugo intestinal como un amboceptor que se fijaría por un lado al substrato proteico y por otro al tripsinógeno de origen pancreático, y que obraría casi como el complemento : así como el complemento no actúa sobre el antígeno si éste no es *sensibilizado* por el amboceptor, el tripsinógeno de páncreas sólo atacaría a las proteínas después que éstas hubiesen sido sensibilizadas por la quinasa entérica. Son, sin embargo, comparaciones poco probables, tanto más cuanto otros agentes, como las simples sales de Ca, pueden substituir al jugo intestinal (pero la activación por las sales de Ca es lenta : aparece solamente al cabo de algunas horas de haberlas añadido al jugo pancreático) y con mayor razón porque la inactividad del jugo pancreático procedente de fístula sólo es clara respecto a ciertas proteínas, como la albúmina de huevo cocida, pero no respecto a otras, como la caseína y la fibrina, que son atacadas por el jugo pancreático puro (U. Lombroso). También el jugo segregado en abundancia después de la inyección de pilocarpina, de colina o de albumosas o también de secretina es frecuentemente activo por sí solo, sin necesidad de agentes quinásicos. De la misma manera un extracto de bazo de un animal en digestión, activaría la tripsina del jugo pancreático puro (Schiff). La reacción óptima para la acción proteolítica de la tripsina es de cerca de $[H^{\cdot}] = 1 \cdot 10^{-8}$ o de $2 \cdot 10^{-8}$ (pero según recientes investigaciones de Long, más bien $1 \cdot 10^{-6}$), o sea poco más o menos la reacción comúnmente admitida para el contenido duodenal. Los ácidos inactivan rápidamente la tripsina. El tejido conjuntivo crudo, la clara de huevo cruda y la seroalbúmina son muy resistentes a la digestión trípsica : la resistencia de la seroalbúmina no podemos dejar de considerarla como una explicación parcial del llamado *poder antitrípsico* del suero de la sangre. De la misma manera que respecto a la pepsina, las proteínas de las células vivas deben ser resistentes a la tripsina ; en efecto, el intestino no se autodigiere normalmente y tampoco son digeridos los *parásitos intestinales* mientras son vivos. La bilis favorece. por el contrario, la acción trípsica, pero sólo de la tripsina ya activa, no pudiendo, por lo tanto, substituir a la quinasa.

¿De qué modo la tripsina desintegra las proteínas? Parece que las proteínas ya influenciadas, si no divididas, por la pepsina son mucho menos resistentes a la acción trípsica : la pepsina debilita ciertas uniones atómicas, aun desconocidas, de la molécula proteica, después de lo cual la molécula es fácilmente dividida por la acción de la tripsina. Esta produce primero la escisión en polipéptidos complejos, que son las *albumosas* o *proteosas* y, por división consecutiva, las *peptonas* ; luego estos polipéptidos, de cadena más o menos larga, son fragmentados a su vez, poniéndose en libertad los aminoácidos. Adviértase que probablemente algunos aminoácidos ya son separados desde un prin-

cipio de los grandes complejos primitivos (albumosas). Finalmente, todo el edificio molecular queda reducido a aminoácidos, excepto un residuo particularmente resistente (antiguas *antipeptonas de* KÜHNE, es decir, peptonas resistentes a la acción tripsica). Los distintos aminoácidos se reparan con diversa facilidad del complejo proteico : los primeros en separarse, ya de las albumosas más complejas, son la tirosina, el triptófano y la cistina ; más tarde se separan el ácido glutámico y el aspártico, la alanina, la leucina y los ácidos diaminados. Finalmente, en la papilla constituída por las substancias en digestión se encuentran todos los aminoácidos excepto la glicocola, la fenilalanina y la prolina que, por el contrario, se separan del resíduo no atacado si éste se somete a la hidrólisis por ácidos en caliente.

Así pues, mientras la pepsina obra, como ya se ha dicho, sobre ciertas uniones de la molécula proteica aun no conocidas, la tripsina o el sistema de enzimas trípsicas tiene su principal punto de ataque en el enlace carboamínico o de los péptidos (pág. 88) y por lo tanto actúa también sobre los polipéptidos artificiales que presentan exclusivamente esta forma de encadenamiento de los aminoácidos. El edificio molecular proteico es, en cierto modo, *derribado* progresivamente por la tripsina, como si ciertos aminoácidos estuviesen más expuestos a la acción del fermento que otros, como si, por ejemplo, algunos fuesen más superficiales y otros más profundos, o ciertas uniones fuesen más tenaces que otras.

Podemos representar de esta manera el curso de la escisión proteica debida a la tripsina :



Sobre los núcleoproteidos la tripsina obra separando el ácido nucleínico que se hace más dializable, ya no es gelificable y, por lo tanto, ha sido evidentemente modificado y dispuesto para la escisión : sin embargo, no se liberan bases púricas. Por el contrario, éstas quedan libres si no se emplea jugo pancreático puro, sino extracto de páncreas *(núcleoacidasas de los tejidos)*.

La esteapsina, o lipasa pancreática, escinde las grasas neutras en ácidos grasos y glicerina, pero el jugo pancreático tiene una acción compleja sobre las grasas. Ante todo las emulsiona de la manera más perfecta porque, por combinación entre los ácidos grasos ya libres (las grasas alimenticias casi siempre son rancias, aunque no sea más que de una manera imperceptible) o formados en el primer contacto con la lipasa, y los álcalis del jugo pancreático y entérico presentes en gran abundancia, se forman jabones que son el agente emulsionante por excelencia. La emulsión de las grasas, esto es, su transformación en una suspensión de gotitas finas, permite que prosiga en buenas condiciones el efecto saponificante de la lipasa, que divide así una buena parte de la grasa neutra en ácidos grasos y glicerina.

La acción saponificante facilita, por lo tanto, la emulsionante, y ésta a aquélla. La bilis eleva considerablemente el poder saponificante del jugo pancreático (se ha dicho que la bilis activa una proesteapsina inactiva). Las sales biliares son las que poseen esta acción activadora sobre la lipasa pancreática. La lipasa es más activa sobre la trioleína que sobre los otros glicéridos.

La *amilopsina* o fermento amilolítico es muy activa : efectivamente, el jugo pancreático transforma con gran rapidez el almidón en dextrina y maltosa. La bilis, y quizás la saliva inactivada por los ácidos, refuerzan esta acción sacarificante. Por la diálisis, el jugo pancreático, igual que la saliva, pierde el poder amilolítico, que reaparece añadiéndole pequeñas cantidades de sales. Se ha descrito una *maltasa*, y tamnién una *lactasa* (animales en período de lactación) en el jugo pancreático.

Para terminar este resumen acerca del jugo pancreático diremos que cuando éste se derrama fuera de los conductos excretores en el tejido periglandular y en la cavidad peritoneal, es tóxico y produce fenómenos de necrosis aguda. También es tóxico por inyección intravenosa : produce reacción leucocitaria, descenso de la presión sanguínea y lesiones difusas de los capilares, quizás por formarse productos de desintegración proteica (1), tanto más cuanto la toxicidad se obtiene solamente mediante el jugo con tripsina activada (2).

2.° *Jugo intestinal.* — Es segregado escasamente por el íleo, pero abundantemente por el duodeno y el yeyuno. Es la secreción de las glándulas de GALEATI-LIEBERKÜHN y de las glándulas de BRUNNER, junto con moco producido por las numerosas células caliciformes de la

(1) SCHITTENHELM y colaboradores, *Zeitschr. f. exper. Path. und. Ther.*, volúmenes X y XI.
(2) MIGAY y PETROFF, *Zeitschr. f. d. ges. exp. Med.*, vol. XXXVI.

mucosa. Es un líquido opalescente, alcalino, que con los ácidos desprende burbujitas de CO_2 lo que demuestra su gran riqueza en carbonatos. Su $[H^+] = 0{,}5 \cdot 10^{-8}$ según LAMBLING y según datos antiguos tendría un $\Delta = -0°{,}62$ (1). Contiene además un 0,2 % de carbonato sódico y un 0,5-0,6 % de NaCl. Contiene núcleoproteidos y varios fermentos : *lactasa* (fermento que escinde la lactosa en glucosa y galactosa) en los omnívoros y carnívoros, y también en los herbívoros durante el período de lactación y una *invertasa* (que divide el azúcar de caña en glucosa y levulosa) la cual sería la única invertasa presente en las secreciones animales ; quizás tanto ésta como la lactasa están unidas a la mucosa y no mezcladas con el jugo intestinal (LAMBLING) y, por lo tanto, deben considerarse como fermentos de los tejidos o histoenzimas y no como exoenzinas. Además existe una *maltasa*, una *emulsina* (?), una *lipasa*, que sería también activa sobre las lecitinas (CLEMENTI) y quizás una *amilasa* en pequeña cantidad. Ya hemos hablado de la *enteroquinasa*, para cuya formación es un excitante específico el jugo pancreático, el cual es después activado por ésta.

El fermento intestinal quizás más importante es la *erepsina* (O. COHNHEIM), que ataca las peptonas dividiéndolas en aminoácidos, mientras que es inactiva para las proteínas verdaderas (a excepción de las protaminas, de las histonas y de la caseína, que son atacadas) : es, pues, una peptasa típica. Adviértase que los extractos de mucosa tienen un poder erépsico superior al del jugo, y recuérdese que las peptasas existen en la sangre y en muchísimos tejidos, por lo cual la erepsina también es, quizás en gran parte, una histoenzima (2). Se encuentran también peptasas en el tejido pancreático y por lo tanto en los *extractos* pancreáticos, pero el *jugo* pancreático no contiene peptasas del tipo de la erepsina, es decir, que ataquen a *todos* los polipéptidos compuestos por aminoácidos naturales.

En realidad, el carácter especial de *esta* peptasa, de la erepsina del jugo intestinal, es la acción sobre todos los enlaces carboamínicos y sobre todos los polipéptidos, aun aquellos que resisten a la tripsina : he aquí como la erepsina del jugo intestinal completa la acción de la pepsina y de la tripsina. Estos tres fermentos juntos hidrolizan las proteínas casi de la misma manera que lo harían los ácidos minerales.

El jugo intestinal ataca los núcleoproteidos mucho más profundamente que la pepsina y que la tripsina : los divide en mononucleótidos y por medio de *núcleoacidasas*, es decir, de fermentos con acción sobre el ácido nucleínico, separa en éstos el ácido fosfórico de los nucleósidos. Los extractos de mucosa entérica pueden escindir ulteriormente ciertos nucleósidos en pentosa y bases purínicas. Finalmente, estos extractos, pero no el jugo puro, pueden desintegrar la arginina en ornitina y

(1) HAMBURGER y HEKMA, *Journ. d. Phys. et de Path. gen.*, vol. IV, 1902.
(2) Todas las peptasas atacan la glicil-l-tirosina ; se emplea este aminoácido para reconocerlas por ser de fácil identificación la torisina que se libera de ella.

urea ; contienen, pues, *arginasa*. La lecitina sería también atacada por el jugo intestinal (1).

3.° *Bilis*. — No es solamente una *secreción* como las precedentes, sino una verdadera *excreción* ; recientemente BRUGSCH ha llamado *coleresis* a la excreción por la vía biliar (nombre formado por analogía con *diuresis*, la excreción urinaria). Por vía hepático-biliar son ampliamente eliminados algunos venenos exógenos (por ejemplo, metálicos) ciertas substancias originadas en el organismo como productos del metabolismo (así, los últimos términos del metabolismo de la hemoglobina ; parte del ácido úrico ; y entre los componentes corpóreos minerales, parte del calcio) (2). No debe perderse de vista que una parte de la bilis es reabsorbida en el intestino delgado y que sus constituyentes vuelven al hígado, sobre el que obran como excito-secretores *(circulación entero-hepática)*.

La bilis es producida continuamente, y la vesícula sirve para recogerla a medida que se forma para vaciarla en el intestino durante las horas de la digestión (las comidas ricas en albuminoides son las que producen un aflujo más abundante), obteniendo así, de una secreción continua, una eliminación discontinua. Sin embargo, no siempre hay una relación exacta entre las horas de las comidas y el máximo aflujo de bilis en el duodeno. Durante el ayuno disminuye un poco, pero continúa cualitativamente inalterada la secreción biliar (3). Muchos agentes considerados como colagogos, tales como las peptonas, los jabones y el sulfato de magnesia, obran principalmente excitando las vías biliares y la vesícula para que se vacíen. La llegada del quimo ácido al duodeno es el excitante fisiológico principal, y hasta algunos han admitido una verdadera acción excito-secretora por vía hormónica y por lo tanto una acción de la *secretina* sobre la secreción biliar igual que sobre la pancreática. Los verdaderos excitantes de la secreción son los componentes de la bilis reabsorbida : la bilis es el mejor colagogo, tanto que ha entrado actualmente en la práctica terapéutica. Por lo que se refiere a ciertos constituyentes biliares, tenemos en ellos un ejemplo de productos específicos de ciertas células (células hepáticas) que actúan como estímulo electivo sobre la célula para la consecutiva fabricación de los mismos productos.

(1) CLEMENTI, *Arch. di Fisiol.*, vol. VIII, 1910.
(2) En la bilis pueden aparecer substancias colorantes inyectadas bajo la piel o en las venas ; de las últimas investigaciones parece deducirse que la eliminación biliar del azul de metileno inyectado bajo la piel, está acelerada cuando existen lesiones hepáticas. Los trabajos de ROSENTHAL y FALKENHAUSEN *(John Hopkins Hosp. Bullet.*, vol. XXIV, 1913) que inyectan subcutáneamente 5 c. c. de solución al 2 % de azul de metileno, de LEPEHNE *(Berl. klin. Woch*,. 1921, n.° 44) y de HATIEGANN *(Ann. de Med.*, 1921, vol. X), contienen muchos datos acerca de este cromodiagnóstico hepático o cromocoloscopia ; todos estos investigadores determinan el momento de aparición del color en la bilis, recogiendo ésta por sondaje duodenal con tubo de EINHORN. También se ha usado el índigocarmín, pero en este caso hay retardo de la eliminación por la bilis en los casos de lesión hepática (HESSE y WÖRNER, *Klin. Woch.*, 1922, n.° 23).
(3) ALBERTONI, *Arch. ital. di Biologia*. XX, 1890.

La bilis no contiene otros fermentos sino una pequeña cantidad de amilasa ; por este motivo no es un verdadero jugo digestivo como los precedentes, a pesar de tener una gran importancia para la digestión, especialmente de las grasas.

Sin embargo, THANNHAUSER (1) ha encontrado recientemente en el jugo duodenal y en la bilis un fermento que parece escindir los ésteres colesterínicos ; esto explicaría por qué la colesterina se encuentra siempre libre en la bilis.

La bilis tal como sale del conducto hepático, es decir, tal como es producida por el hígado, es muy flúida y límpida, pero la bilis que se recoge del colédoco, y que, por lo tanto, ha permanecido en la vesícula, es más densa, filante y turbia (detritus epiteliales, bilirrubinato de Ca). Esta última es la que se estudia comúnmente, y contiene también *moco* y productos de descamación epitelial de las grandes vías biliares y sobre todo de la vesícula biliar. La bilis fresca es de color amarillo dorado ; se vuelve verde en contacto del aire y también por prolongada permanencia en la vesícula.

El hombre produce casi un litro de bilis en 24 horas. $\Delta = -0°,54$ a $-0°,61$. Reacción casi neutra : $[H^+] = 0,13 \cdot 10^{-7}$ hasta $3 \cdot 10^{-7}$ (2). Contiene 2,5-3 % de substancias sólidas : los constituyentes más importantes son las *sales biliares*, los *pigmentos* y la *colesterina* ; también se hallan en ella varios fosfátidos, *mucina* verdadera y *pseudomucina* (que es una fosfoproteína), jabones, grasas neutras, pequeñas cantidades de urea y de ácido úrico, varias sales (son abundantes las de Na y K ; según LICHTWITZ y BOCK hay unos 85-352 mgr. de cal por 1000 en la bilis de la vesícula biliar) (3). La bilis no se coagula por el calor. Si se acidula con ácido acético se forma un precipitado que *no* se disuelve en un exceso de ácido y que por lo tanto ha sido considerado como mucina, pero que en parte es producido por una fosfoproteína que, como tal, debería ser soluble en un exceso de ácido, pero no lo es por la presencia de sales biliares. Batiendo la bilis con éter no se extrae el pigmento si no se acidula primero con un poco de HCl diluído, el cual libera el pigmento de sus sales alcalinas (bilirrubinato de Na).

Según HAMMARSTEN, 1000 partes de bilis de la vesícula biliar (muy concentrada) contienen :

Mucina y pigmento	41,91— 44,37
Sales biliares	193,94—174,46
Ac. grasos y jabones (colatos, etc.)	11,17— 10,58
Colesterina	9,86— 8,70
Lecitina	2,23— 1,41
Grasa neutra	1,90— 6,50
Sales solubles	2,88— 3,02
Sales insolubles	2,22— 2,36

(1) *Deutsch. Arch. f. Klin. Med.*, vol. CXLI.
(2) QUAGLIARIELLO, *Rend. Acc. Lincei.*, vol. XX, serie 5.ª, 1911.
(3) LICHTWITZ y BOCK, *Deutsch. med. Woch.*, 1915, pág. 1215.

Las *sales biliares* tienen la siguiente propiedad importante : ayudan de manera especial a la disolución de los ácidos grasos y de la colesterina : 100 c. c. de bilis de buey, en virtud de las sales biliares que contienen, pueden disolver en presencia de un poco de álcali unos 19 gr. de ácidos grasos, con tal de que entre éstos se encuentre el ácido oleico. En los distintos animales hay tipos diversos de sales biliares : en el hombre se encuentran principalmente sales sódicas de los ácidos glicocólico y taurocólico. Estos ácidos son producidos a su vez por el acoplamiento de la *glicocola* y de la *taurina* con *ácido colálico*. HAMMARSTEN ha estudiado a fondo (1) todos los distintos tipos de ácidos (y sales) biliares en la serie animal. En la bilis de los plagiostomos (peces cartilaginosos) se han encontrado ésteres del ácido sulfúrico con substancias de carácter alcohólico, que pueden situarse entre el ácido colálico y la colesterina. Además de los productos llamados de acoplamiento del ácido colálico con la glicocola y la tamina, la bilis humana contiene también ácido *desoxicolálico* y *ácido litocolálico* de 24 átomos de C como el colálico y con cuatro núcleos hidrobencénicos con una cadena lateral. Como se ve por la formación de los *ácidos coleínicos*, todos los ácidos biliares tienen tendencia a unirse con ácidos grasos : el *ácido coleínico* de la bilis humana es un compuesto estable de 8 moléculas de ácido desoxicolálico con una de ácido palmítico o esteárico (2). Por esta causa las sales biliares transforman la insolubilidad en el agua de los ácidos grasos y de la colesterina en una solubilidad *aparente* ; actúan respecto a estos cuerpos casi como mediadores de solubilidad en el sentido que, según HERZFELD y KLINGER, se ha admitido para los productos de desintegración de los albuminoides respecto a las proteínas. Además las sales biliares son unos activadores enérgicos de la lipasa pancreática. Inyectadas en la circulación son tóxicas (hemolíticas y quizás excitantes del *sistema parasimpático ;* bradicardia de los ictéricos, es decir, de individuos en estado de colemia y por lo tanto con *colalemia* o presencia de sales biliares en la sangre). Los ácidos biliares libres, no salificados, son enérgicos antisépticos, pero la bilis en conjunto tiene un poder antiséptico escaso o nulo, tanto es así que las vías biliares sirven de receptáculo a numerosos gérmenes de la flora normal y patológica del intestino, así como de vía de eliminación de gérmenes que circulan por la sangre, y además la bilis se emplea como medio de enriquecimiento para los gérmenes del grupo tífico y paratífico. Las heces acólicas son particularmente pobres en bacterias si el régimen no es excesivamente rico en carne que eleve por su cuenta los fenómenos de putrefacción intestinal.

Para reconocer las sales biliares es clásica la *reacción de* PETTENKOFER : diluir la bilis al 1 : 10 en agua, disolver en ella un poco de azúcar de caña, hacer deslizar hasta el fondo unos 5 c. c. de H_2SO_4 concentrado y agitar suavemente : aparece lentamente una colora-

(1) *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vols. XXIV, LXI, LXVIII, LXXIV.
(2) WIELAND y SARGO, *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. XCVII.

ción púrpura. La reacción es debida al furfurol que se forma del azúcar tratado con un ácido fuerte y que se combina con los ácidos biliares, igual que con otros cuerpos aromáticos, por ejemplo en la reacción de MOLISCH, páginas 106 y 114. Evítese un exceso de azúcar que con el ácido fuerte formaría caramelo y enmascararía la reacción.

Otra reacción se funda en la propiedad que tienen las sales biliares de reducir muchísimo la tensión superficial de sus disolventes : esta misma propiedad es una de las causas de su acción citolítica y especialmente hemolítica.

Se demuestra fácilmente (reacción de HAY) diluyendo la bilis y espolvoreando el líquido con un poco de flor de azufre : ésta va al fondo como en todos los líquidos que tienen una tensión superficial inferior a 60 dinas/cm.^{2}, mientras que sobrenada en el agua pura, soluciones salinas, etc. Esta sencilla reacción puede practicarse también en la orina para reconocer la existencia de sales biliares cuando la reacción de PETTENKOFER es poco demostrativa por la presencia de otras materias colorantes (1)

Los *pigmentos* son esencialmente la *bilirrubina* y sus productos de oxidación (Parte Primera). La bilirrubina está disuelta en forma de bilirrubinato sódico o, en el buey, existe también en forma de pequeñas concreciones de bilirrubinato cálcido. Véase lo que diremos en la Sección siguiente acerca de la presencia de bilirrubina en el plasma sanguíneo normal. Los pigmentos biliares son el término final del metabolismo de la hemoglobina (2). Los glóbulos rojos viejos son destruídos en el bazo y quizás también en las llamadas glándulas hemolinfáticas ; su pigmento es elaborado primeramente en el mismo bazo y en general en el aparato retículo-endotelial esplenohepático, verificándose quizás allí la separación del Fe y el metabolismo consecutivo de este metal ; luego el pigmento es elaborado en el hígado por la célula hepática, que obtiene los pigmentos biliares, verdaderos productos de excreción. Es un hecho establecido que el aumento en la destrucción de hematíes (hemolisis intravital) conduce a un aumento en la formación de pigmentos biliares, haciéndose la bilis más densa y coloreada (*pleiocromia* de la bilis). Pero existe mucha incertidumbre acerca de los verdaderos centros de elaboración del pigmento hemático y su transformación en pigmento biliar ; algunos consideran, con la escuela de ASCHOFF, que toda la transformación, y no solamente la separación primitiva del Fe, puede ser obra del aparato retículo-endotelial, y que la célula hepática no fabrica el pigmento biliar sino que solamente extrae y elimina el formado por dicho aparato y eventualmente también el que circula en la sangre (*teoría de la ictericia retículo-endotelial*, nueva encarnación de la *teoría anhepatógena de la ictericia*, opuesta a la de la *ictericia exclusivamente hepatógena* sostenida por NAUNYN y MINKOWSKI).

(1) Véase el detenido estudio de SERVADIO, *Riv. crit. di Clinica medica*, número 19. 1923.
(2) Véase el artículo resumen sobre su génesis en *Klin. Woch.*, 1922, pág. 858.

Las analogías químicas ya citadas entre los derivados de la hemoglobina tal como se forman en algunos focos hemorrágicos y los pigmentos biliares (por ejemplo, la hematoidina es isómera de la bilirrubina) serían una prueba de la posibilidad de una génesis extrahepática de los pigmentos biliares. Se ha intentado averiguar la parte que, en la génesis de los pigmentos biliares, se debe al aparato retículo-endotelial, blocando y cargando de materias coloidales (colargol, hidrato de hierro coloidal) este aparato y estudiando después la eliminación del pigmento por la bilis recogida por medio de una fístula o la manera de comportarse el pigmento en la sangre, pero se han obtenido resultados contradictorios ; así ELEK (1) ha obtenido una reducción del pigmento después del bloqueo retículo-endotelial, mientras que GREPPI (2) ha visto formarse normalmente el pigmento aun con posterioridad a la inyección de hemoglobina en el torrente circulatorio. Los recientes experimentos de ERNST y SZAPPANYOS (3) serían decisivos para la génesis extrahepática de los pigmentos biliares, si fuesen confirmados : estos autores habrían visto formarse bilirrubina en el bazo aislado del perro, irrigado con sangre de perro lacada parcialmente, sorprendiendo así esta formación en el mismo órgano de la hemocatéresis.

Es probable que cuando los pigmentos biliares sobrepasan una determinada concentración en la sangre, tienen cierta toxicidad, siempre bastante inferior a la de las sales biliares ; nótese, sin embargo, que en la ictericia los pigmentos abundan siempre en la sangre, en relación con estas últimas y, por lo tanto, quizás tienen alguna participación en la génesis de los síntomas colémicos.

La *colesterina*, substancia bien cristalizable y que puede obtenerse en estado puro, ofrece igualmente algunos puntos oscuros al químico, como advierte v. FÜRTH (4) y, añadiremos, también al biólogo. ¿De dónde proviene la colesterina de la bilis ; qué relaciones genéticas existen, si es que las hay, entre ella y los ácidos biliares con los cuales tiene un evidente parentesco químico? La colesterina puede derivar en parte de los epitelios de la mucosa intestinal y también del de las vías de recolección y depósito de la bilis, pero no es muy probable que se forme colesterina *ex novo* y en cantidad de los epitelios, por ejemplo, de la vesícula biliar (ASCHOFF). Son ya clásicas las experiencias de GOODMANN (5) acerca de las relaciones entre los ácidos biliares, la colesterina y la alimentación en el perro con fístula biliar : éstas confirman que la secreción de bilis llega al máximo después de las comidas ricas en proteínas, pero que la acción excito-secretora más acentuada era la debida a la ingestión de ácido colálico, mientras que ni la ingestión de cerebro de buey (rico en colesterina) ni la inyección

(1) *Klin. Woch.*, 1924, n.° 4.
(2) *Giornale de Biol. e Med. sperimentale*, vol. I, n.° 3.
(3) *Klin. Woch.*, 1922, n.° 13.
(4) *Probleme d. phys. u. path. Chem.*, Leipzig, 1912.
(5) *Hofmeister's Beitr.*, vol. IX, 1907.

de colesterina en el torrente circulatorio conseguían aumentar la secreción de sales biliares y de colesterina : por lo tanto la colesterina biliar no aumentaría por la hipercolesterinemia. Según investigaciones posteriores de otros autores, los ácidos biliares podrían aumentar ciertamente al crecer el aporte alimenticio de colesterina y, por lo tanto, con una hipercolesterinemia ; estos ácidos serían, según una opinión grata a los autores franceses, un producto de transformación y de excreción de la colesterina, que se originaría por una actividad especial de la célula hepática. Esta extraería la colesterina de la sangre y la eliminaría en parte como tal y el resto después de haberla transformado en ácido colálico, que serviría también para solubilizar la primera porción de la colesterina y para otros usos (GRIGAUT). Pero no existen aún pruebas ciertas de la naturaleza y de la *dirección* de las relaciones genéticas entre el ácido colálico y la colesterina, que ciertamente dejan entrever la analogía química que existe entre ellos.

Más fácil es encontrar pruebas esencialmente clínicas de que puede existir alguna relación entre el aumento de colesterina en la sangre y el aumento de esta substancia en la bilis, a pesar de los resultados negativos ya citados de GOODMANN. La antigua doctrina de NAUNYN sobre la riqueza constante de colesterina en la bilis parece estar en contradicción con las recientes observaciones de CHAUFFARD, LAROCHE y GRIGAUT (1) y también con los de MC NEE (2), según los cuales existiría, por ejemplo, una *hipercolesterinia biliar*, o aumento de la colesterina en la bilis, en la mujer grávida (hasta de 7,5 $^0/_{00}$ en vez de 1 a lo más, según algunos 1,5 es lo normal) en la cual existe realmente una hipercolesterinemia ; además, la ingestión de alimentos ricos en colesterina (yema de huevo con 20 gramos de colesterina por 1000 de substancia fresca ; cerebro, también con un 20 $^0/_0$; mantequilla, con 4 $^0/_{00}$; hígado, riñón y timo, con 2-4 $^0/_{00}$) produciría primero una hipercolesterinemia y luego una hipercolesterinia biliar.

¿La colesterina es toda de origen alimenticio o se forma también en el organismo? ¿Existe una colesterina *exógena* y otra *endógena*? Contrariamente a las opiniones más antiguas, parece actualmente que debe aceptarse una colesterinogénesis endógena : recientísimamente BEUMER y LEHMANN (3) han dosificado la colesterina contenida en el organismo entero de perritos de tres semanas alimentados desde el primer día de su vida extrauterina con una dieta pobre en colesterina y han encontrado que el contenido total de colesterina era veinte veces la cantidad de esta substancia introducida con la alimentación. La colesterina, pues, puede originarse en el metabolismo intermedio y quizás el aparato retículo-endotelial tiene importancia no sólo para el almacenamiento de colesterina exógena, sino también para la elaboración de la endógena. Lo mismo puede decirse de la capa cortical

(1) Trabajo de resumen en *Annales de Med.*, vol VIII, n.° 2 y 3, 1920. Datos numerosos en *Compt. rend. Soc. de biol.*, 1910 y siguientes.
(2) *Deutsch. med. Woch.*, 1913, n.° 21.
(3) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXXVII, fasc. 3 y 6, 1923.

de las suprarrenales y del cuerpo lúteo, considerados por la escuela de ASCHOFF (1) como aparatos de simple almacenamiento de colesterina, y por CHAUFFARD y discípulos, por el contrario, como verdaderos centros colesterinógenos.

Resumiendo la función de la bilis en el proceso digestivo, debemos decir que ésta aumenta notablemente la acción lipolítica del jugo pancreático (sin embargo, si se suprime el flujo biliar en el duodeno, la escisión de las grasas continúa verificándose casi sin ser influenciada) ; además refuerza un poco la acción proteolítica y amilolítica del mismo jugo. Pero su principal efecto es el de solubilizar los ácidos grasos, para facilitar su absorción. Igual que el jugo intestinal y que el pancreático, neutraliza el ácido clorhídrico del quimo procedente del estómago. Finalmente excita el peristaltismo intestinal (la bilis es un verdadero *laxante natural*) y los ácidos biliares (liberados quizás por el HCl del quimo) tienen una ligera acción antiséptica y precipitan las proteínas aun no atacadas, preparándolas para sufrir la acción de los agentes proteolíticos entero-pancreáticos.

4.° *Formación de los cálculos biliares.* — En el tubo intestinal, dada la tendencia *soloide* del quimismo *intestinal*, como dice SCHADE, es rara la formación de concreciones y sólo se observan en los puntos (apéndice) en que está reducida o anulada la tendencia general de los materiales contenidos en el tubo digestivo a aumentar su dispersión o en los que se realizan con facilidad procesos que conducen a la formación de coloides de precipitación irreversible (exudados fibrinosos). En cambio sabemos con cuanta frecuencia en las grandes vías biliares y especialmente en la vesícula biliar, se forman concreciones, cuyo tamaño varía desde la simple *arenilla* a los verdaderos *cálculos*.

Se distinguen, con ASCHOFF y BACMEISTER (2), las siguientes variedades de cálculos biliares : unos *radiados*, blanco grisáceos, blandos, céreos, constituídos por colesterina pura o con una escasísima trama o esqueleto proteico-coloidal ; otros *estratificados concéntricamente*, de colesterina y cal, de aspecto cristalino, amarillos o blanquecinos ; otros de *colesterina, cal* y *bilirrubina* (bilirrubinato de Ca), de diversos colores, frecuentemente oscuros y hasta negros, con un núcleo formado por materia orgánica compleja, un cuerpo extraño, etc. (son los más comunes) ; algunos *compuestos*, formados por un núcleo de colesterina de aspecto radiado y capas concéntricas de colesterina, cal y más o menos bilirrubina ; finalmente existen los de bilirrubinato de Ca puro, sin colesterina, más frecuentemente intrahepáticos que vesiculares.

Simplificando podemos decir que existen por un lado los cálculos de colesterina pura, blandos, con estructura radiada, y por otro los cálculos de bilirrubinato de cal, más o menos oscuros, frecuentemente con un abundante esqueleto orgánico constituído por productos infla-

(1) VON KRYLOW, LANDOU y MC NEE, en *Ziegler's Beitrage*, vol. LVIII, 1914.
(2) *Die Cholelithiasis*, 1909.

matorios, bacterias, etc. Entre estos extremos están comprendidos los cálculos más comunes, mixtos o compuestos, en los cuales la colesterina, el pigmento y la cal están combinados de maneras variadas, aunque, por lo general, la primera es la que inicia la tendencia a la estructura radiada, mientras que el pigmento y la cal, con las materias orgánicas que incluyen, acostumbran a disponerse en capas concéntricas. La colesterina puede adoptar una apariencia y estructura *lamelar* o *nacarada*, comparable a la de las perlas, aunque esto no es más que un efecto de la presión que actúa sobre el cálculo que se forma mientras que si la colesterina precipita libre de toda presión, tal como en la bilis estéril en reposo, aparece aun *in vitro* la disposición radiada característica de las concreciones.

Aschoff y Bacmeister ya habían demostrado en sus clásicos trabajos que la bilis abandonada a sí misma puede precipitar la colesterina en forma de sedimento cristalino y aun a veces como verdaderas concreciones, pero los estudios de Lichtwitz (1) y de Schade (2) han aclarado mucho este proceso. Se ha visto que la colesterina puede precipitar en la bilis, si las bacterias destruyen los colatos que la mantienen en solución : el b. tífico, el *b. coli*, el proteus, gérmenes de la flora patológica o normal del intestino, pueden destruir las sales biliares y por este mecanismo determinar la precipitación de la colesterina (3). La *bilis estéril* también puede, sin embargo, precipitar su colesterina : el elemento infectivo no es, pues, necesario y la opinión de Aschoff, sostenida por Schade y actualmente aceptada por casi todos, es que los cálculos de colesterina pura pueden originarse simplemente por estasis biliar, sin intervención de ningún agente infeccioso.

La teoría de Naunyn, de que el cálculo sería siempre y constantemente debido a una flogosis de las vías biliares, a un *catarro litógeno*, no puede sostenerse de un modo absoluto. Es un hecho anatómico que en la vesícula inflamada crónicamente aumenta el número de las glándulas mucíparas y que el moco de esta secreción es rico en cal, y es también probable que un cierto aumento de la colesterina proceda de los epitelios desintegrados (Naunyn), aun cuando quizás se trate principalmente de colesterina ya primeramente presente en la bilis, absorbida luego por el epitelio y puesta por fin en libertad al verificarse su descamación (Aschoff). Pero actualmente podemos y debemos tener también en cuenta ciertos *factores generales* discrásicos, que explican el aumento accidental de colesterina en la bilis en relación con hipercolesterinemias (alimenticias, gravídicas, infectivas ; veremos que estos factores, conocidos como predisponentes para la colelitiasis, son causa de hipercolesterinemia) ; por otra parte sabemos dominar mejor las causas de la precipitación de los constituyentes

(1) *Ergebn. d. inn. Med. u. Kinderheilk.*, vol. XIII, 1914.
(2) Resumidos en el libro ya citado.
(3) Exner y Heyrowski, *Wien. Klin. Woch.*, 1908, n.° 7 ; *Archiv. f. Klin. Chirurg.*, vol. LXXXVI, fasc. 3.

biliares, ya sean normales o patológicas (cualitativa y cuantitativamente), en las vías biliares.

Podemos, pues, seguir con Schade la formación de los cálculos de colesterina pura : de una solución de colesterina en sales biliares, la colesterina precipita lentamente, primero en cristalitos aciculares y después en forma de laminillas ; pero si a la solución se había añadido un poco de grasa (o de bencina) se ve que la colesterina se separa primero en gotas redondas, blandas, con una tendencia mayor o menor a confluir (« separación en gotas » o *tropfige Entmischung* de los alemanes) que es, pues, un estado transitorio coloidal, como siempre que una substancia cristaliza. Por lo tanto también en este caso aparecen las agujas características, pero como las gotas tienden a confluir a medida que se forman, también los cristales siguen esta tendencia, comportándose como soluciones sólidas y confluyendo los más pequeños en los mayores : he aquí, pues, la *estructura radiada*. También deben intervenir ciertos fenómenos de adsorción entre las gotitas de la fase precristalina, para explicar la confluencia sucesiva y además para explicar como queda incluído en la masa aunque no sea más que un *tenuísimo* esqueleto orgánico de proteínas, etc., adsorbido precisamente alrededor de las gotas.

Mientras que la formación de las concreciones de colesterina puede explicarse por la simple *estasis* de la bilis, quizás más rica en *colesterina* debido a factores discrásicos (teoría favorita de los franceses y actualmente reforzada por las consideraciones y observaciones que se acaban de exponer), los cálculos constituídos por pigmentos y cal tienen su origen en la *precipitación simultánea de coloides y cristaloides* que se verifica en la bilis a consecuencia de procesos que, como los flogísticos, conducen por una parte a la destrucción de los agentes solubilizadores y por otra a la formación de materiales, como ciertos exudados, moco rico en cal, etc., particularmente aptos para las precipitaciones irreversibles. Así el pigmento es mantenido disuelto por varios coloides biliares por un verdadero fenómeno de protección coloidal ; si estos coloides son alterados o destruídos, adsorbidos por superficies nuevas (cuerpos extraños) o sustituídos también por coloides diversos con tendencia a precipitar (fibrinógeno → fibrina), el pigmento puede ser precipitado o arrastrado por el precipitado. También la cal es más o menos influenciada por estas acciones floculantes recíprocas entre coloides o entre coloides y cristaloides, mientras que en la precipitación de la colesterina el estado coloidal, en gotas, es transitorio y va seguido del estado cristalino. En este caso se trata de coloides persistentes (Schade) que tienen como característica la formación de estratos concéntricos, carácter que revela que su origen se debe a precipitaciones sucesivas. Quizás conviniera recordar aquí las *precipitaciones rítmicas* descritas en la página 127. Estos cálculos de colesterina y cal, para los cuales puede aplicarse todavía en gran parte la teoría flogística, infectiva y local, contienen un esqueleto orgánico muy abundante en el que hasta se puede reconocer micros-

cópicamente los detritus celulares, bacterias y quizás fibrina. Naturalmente un cuerpo extraño puede servir de centro de formación para este segundo tipo de cálculos, pero el *núcleo* no siempre es evidente ni necesario. Es también inútil querer averiguar si son los cristaloides los que precipitan a los coloides o viceversa, porque nos encontramos en estos cálculos con una precipitación recíproca, y se comprende que ésta pueda verificarse más fácilmente si se forman nuevas superficies que adsorben unos u otros constituyentes y en cierto modo los concentran sobre sí mismos. Se comprende que diversos factores mecánicos pueden influir también en la forma, número, etc., de dichos cálculos.

Finalmente, muchos cálculos son mixtos: la disposición radiada y la estructura cristalina de una de sus porciones, por ejemplo de una zona central, revela que se ha formado según el tipo primeramente descrito de cristalización de la colesterina que ha pasado por el estado de gotas, y la estructura concéntrica, rica en armazón proteico, de otra parte, por ejemplo, de sus capas periféricas, indica su origen flogístico; el cálculo, dice SCHADE, escribe su propia historia, que se inicia frecuentemente por una fase aséptica con estasis simple seguida de infección y flogosis sucesivas, pero puede también ser distinto este modo de formación.

Se ha discutido mucho sobre si los cálculos pueden reabsorberse: v. HANSEMANN (1) ha visto que ciertos cálculos humanos se disolvían en bilis de perro, pero estas concreciones no se disuelven, según AOYAMA (2) en bilis humana.

5.° *Digestión y absorción intestinal.* — El quimo, la papilla ácida elaborada en el estómago, pasa al duodeno salvando el *obstáculo pilórico*, por efecto del mecanismo reflejo ya descrito: la acidez (especialmente de ácido libre) del quimo, adquirida después de un cierto tiempo de permanencia de los alimentos en el estómago, obra sobre la mucosa del antro pilórico, determina la apertura del píloro y una porción de quimo ácido pasa al duodeno. Entonces la acidez, obrando sobre la mucosa duodenal, tiene un efecto opuesto: provoca el cierre del píloro. Pero entre tanto el ácido del quimo es neutralizado por los jugos pancreático, entérico y biliar, el estímulo ácido deja de actuar y el píloro se abre de nuevo. Si existen muchas grasas en la papilla alimenticia o si en ella se encuentran materiales groseros, no bien desmenuzados, el píloro permanece cerrado durante mucho más tiempo. De este modo el juego de apertura y cierre, con este mecanismo perfectamente coordenado (CANNON), se repite hasta que el estómago se ha vaciado por completo, y llegan al duodeno pequeñas porciones sucesivas de un material bien preparado para el subsiguiente trabajo digestivo. La reacción del contenido intestinal mixto no es tan fuertemente alcalina como se creía en otro tiempo, sino neutra y hasta ligeramente ácida (GLEY y LAMBLING), lo cual perjudica la acción

(1) *Virchow's Arch.*, vol. CCXII.
(2) *Ziegler's Beitr.*, vol. LVII.

de la tripsina (véase más arriba); la fermentación ácida de los hidratos de carbono por la acción de las bacterias interviene también en parte.

Adviértase la utilidad de la detención de la actividad clorhidropépsica que podría perjudicar a la tripsina y demás fermentos: es quizás también la precipitación de los residuos no digeridos de proteínas y de parte de las albumosas por la acción de los ácidos biliares, la que ocasiona esta detención de la fase pépsica de la digestión proteica, que debe ceder el sitio a la digestión erépsica y tripsica.

De la misma manera que la digestión por la erepsina y la tripsina completa para las proteínas el trabajo comenzado por la pepsina, el trabajo de la amilasa y sobre todo de la maltasa y (en los animales jóvenes y en los adultos sometidos a dieta láctea) de la lactosa completa la digestión de los hidratos de carbono comenzada por la saliva. Así como el término de la digestión proteica son los aminoácidos, que las vellosidades intestinales extraen y absorben (1), el término de la digestión de los hidratos de carbono es la glucosa. La galactosa y la levulosa son probablemente absorbidas como tales. Por el contrario, para los disacáridos se admite en la actualidad que siempre son escindidos previamente en monosacáridos y absorbidos como tales. En efecto, la sacarosa, inyectada en la circulación, se comporta como una substancia extraña, determinando la aparición de un fermento defensivo (invertidor) y es en parte eliminada, sin haber experimentado alteración, por la orina. Menos extraña al medio interno parece ser la maltosa, que puede ser desdoblada y utilizada notablemente aunque se administre en inyecciones parenterales (LAMBLING), pero de todos modos en el intestino es escindida en su mayor parte en glucosa.

Respecto a las grasas se ha discutido mucho si podían ser absorbidas en forma de emulsión finísima o bien si ante todo, o por lo menos en gran parte, debían ser *desdobladas*, combinándose el ácido con un álcali para formar un jabón que sería absorbido y absorbiéndose la *glicerina* por su parte en la misma pared intestinal, después de lo cual se reconstituiría la grasa neutra con el ácido graso y la glicerina, y quedarían libres los álcalis.

El hecho es que mientras los aminoácidos y el azúcar son absorbidos y pasan directamente a la sangre de las vellosidades intestinales, las grasas llenan el sistema quilífero en forma de emulsión finísima, como puede *verse* durante la absorción de una comida constituída por grasas. Es, pues, cierto que las grasas *emplean la vía linfática para llegar*

(1) Se ha discutido mucho por los fisiólogos si la pared intestinal tenía o no un poder sintético respecto a los albuminoides, por el cual de los aminoácidos absorbidos se formarían proteínas (proteína circulante, proteína del plasma que debería servir después de *pabulum* para los tejidos.) Incluso GAYDA ha admitido (*Arch. di Fisiol.*, vol. XIV, 1915) que cierta proporción de aminoácidos experimentan durante la absorción fenómenos de síntesis que conducirían a convertirlos en péptidos, pero actualmente parece que no puede afirmarse que se formen proteínas. Los aminoácidos son absorbidos y pasan a la circulación, llegando a los tejidos que se sirven de ellos directamente.

a la sangre y que en la linfa se encuentran ya reconstruídas en forma de grasas neutras. Sin embargo, la opinión que en la actualidad domina es que la absorción a nivel de las vellosidades se realiza a expensas de las grasas escindidas : la emulsión que se verifica ampliamente en el intestino sirve para aumentar la superficie de la grasa y facilitar la acción de la lipasa pancreática, favorecida también por la bilis, pero el acto fundamental de la digestión de las grasas no es su emulsión sino su escisión. Ahora bien, no sólo pueden absorberse los jabones formados por los ácidos grasos con los álcalis disponibles, sino también los ácidos grasos en forma de tales, solubilizados por combinaciones con sales biliares ; éstas transportan, por decirlo así, el ácido graso hasta pasada la barrera epitelial, lo ceden a la linfa y, absorbidos a su vez por vía hemática, llegan al hígado para volver a ser segregados con la bilis. Por otra parte, la rápida reconstrucción de las grasas neutras, quizás en el mismo epitelio absorbente o, de todas maneras, antes de llegar al medio orgánico interno (linfa, sangre) tiene por objeto impedir la acción tóxica (hemolítica) de los jabones y los ácidos grasos. ¿ No podrían ciertas formas de anemia estar en relación con una insuficiencia de este poder reconstructor, especie de verdadera síntesis protectiva, y con el paso a la circulación de pequeñas cantidades de jabones o ácidos grasos de origen alimenticio, tanto más cuanto que se ha demostrado en ciertas anemias la acción patogenética de los ácidos grasos y lipoides de origen helmíntico ?

Los fosfátidos también son divididos bastante profundamente ; la notable cantidad de *colina* que se encuentra en la pared intestinal en donde quizás actúa como hormona (véase la acción biológica de esta base en la Parte Primera, Cap. VII, *l*) podría también derivar de la absorción de fragmentos moleculares de los fosfátidos.

La colesterina es absorbida en parte (aunque sea insaponificable) : lo prueban las experiencias en el conejo en el cual la administración de colesterina por vía alimenticia produce infiltración colesterínica en el interior de los vasos *(ateroma experimental)*, en el aparato retículoendotelial y finalmente en la córnea, como lo ha demostrado Versé (1) el cual ha comprobado en los conejos alimentados con colesterina la formación de un verdadero *arco corneal*, comparable al *arcus corneae* precoz o senil (que Kawamura, Marie y Laroche han probado también que estaba formado por ésteres colesterínicos). Parte de la colesterina pasa después a las heces en forma de *coprosterina*, un producto de reducción debido a las bacterias intestinales.

Los núcleoproteidos son también digeridos parcialmente : es ya conocida la *prueba de los núcleos de* Schmidt, que se basa en el hecho de que el jugo pancreático ataca y disuelve los núcleos, por lo cual, si es segregado normalmente, los núcleos de las células de los órganos parenquimatosos ingeridos no pueden ser reconocidos en las heces. Parece que, en esencia, se llega a una división en proteína, por una

(1) *Verhandl. d. deutsch. patol. Gesellsch.*, 1923, pág. 163.

parte, digerida como las demás, y en nucleósidos y ácido fosfórico por otra, que en parte son absorbidos y en parte quedan en las heces en donde los nucleósidos pueden ser posteriormente destruídos por las bacterias. Las bases purínicas no son, pues, absorbidas en forma libre, sino unidas al hidrato de carbono en forma de nucleósido, quizás porque así son más solubles. También son reabsorbidos en parte ciertos constituyentes de las secreciones digestivas, como los fermentos y los ácidos biliares, e igualmente las sales, especialmente los cloruros, que derivan también de la neutralización del HCl gástrico y que el organismo no quiere desperdiciar.

Dadas las condiciones particulares del trabajo de los fermentos intestinales, con dispositivos a propósito para mantener siempre la reacción próxima a la óptima para la acción de cada fermento con la acción sucesiva de los fermentos sobre substancias gradualmente preparadas por los fermentos precedentes, con la pronta absorción de los productos de acción enzimática, con lo cual se evitan los estados de pseudoequilibrio y de inhibición de la actividad enzimática consecutiva, se comprende que, en condiciones fisiológicas, la digestión pueda ser casi completa para todas las substancias alimenticias, siempre y cuando éstas no sean inatacables. Sin embargo, nunca o casi nunca es del todo completa : siempre existe una porción que es rápidamente sustraída a la zona verdaderamente digestiva del intestino, que es el intestino delgado, y pasa a las heces (en el perro viene a ser del 4-5 % para una comida compuesta de carne, azúcar, almidón y grasa). En muchos alimentos se encuentran porciones no digeribles: tendones, huesos, piel (queratina) procedentes de los alimentos animales y celulosa de los vegetales ; estos productos pasan en mayor o menor cantidad a las heces y pueden a veces impedir la completa utilización de alimentos bien digeribles, como sucede con la celulosa que envuelve y protege contra la acción de los jugos digestivos a las proteínas y al almidón de las células vegetales. En el hombre, se considera que un 10 % de un régimen mixto corriente es sustraído a la utilización.

En cuanto a la *celulosa*, hemos de añadir que se encuentran fermentos activos para ella (sacarificantes) en el tubo digestivo de ciertos artrópodos y en la secreción del llamado hígado del caracol, pero en los animales superiores la celulosa sólo es atacada en parte *por la acción de las bacterias* o al menos con su colaboración. En los rumiantes se verifica una digestión *parcial* (por *fermentación metánica)* de la celulosa en el preestómago, antes de la rumiación, y también se produce en general, en el largo intestino ciego de los herbívoros. Pringsheim (1) ha visto que varias bacterias atacan a la celulosa, produciendo en un primer período una *celobiosa* y glucosa, de los cuales resulta, por acción ulterior, metano, CO_2, H_2 y ácidos grasos inferiores (algunos quizás aun son utilizables para fines energéticos) ; se ha demostrado también que ciertas bacterias termófilas o algunas desnitrificantes atacan el

(1) *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. LXXXVIII, 1912.

papel de filtro. En el tubo digestivo pueden ser absorbidos parte de los productos intermedios di o monosacáridos, antes de que las bacterias los hayan descompuesto en los productos terminales dichos, gaseosos en gran parte. En el hombre la acción digestiva sobre la celulosa es escasa y su utilización como fuente de energía tiene poca importancia; sin embargo, parece que varía según la clase de celulosa y pentosas, pero en esencia la celulosa obra como lastre y excita el peristaltismo intestinal. Hasta algunos, como A. SCHMIDT, han sostenido que la presencia de un poder digestivo anormal para la celulosa sería una causa de estreñimiento crónico, pues reduciría el poder excito-motor de esta substancia. En cierto modo sería un *estreñimiento por hiperpepsia*, en el sentido de STRASSBURGER, es decir, por exceso de digestión o utilización de los alimentos, con reducción del volumen de las heces y por lo tanto del estímulo que éstas ejercen sobre la motilidad intestinal. Sin embargo, esta doctrina es combatida por algunos, por ejemplo, por REISS (1).

Todos los materiales que el trabajo digestivo ha simplificado, disuelto y privado de la especificidad zoológica y constitutiva (tratándose de proteínas) son absorbidos por la gran superficie del intestino delgado con sus vellosidades : entran en juego fenómenos de *filtración*, por la diferencia de presión que existe entre la superficie del intestino y el espacio quilífero interno de la vellosidad ; de *difusión* y *ósmosis* ; de *imbibición de los coloides celulares* y de *adsorción*. Pero el epitelio absorbente tiene una *selectividad* tal, que es difícil explicar todos los hechos que se han observado tomando sólo como base las leyes citadas : así pasa cuando vemos que, además del agua de una solución hipotónica introducida en el intestino, también es absorbido el cuerpo disuelto si éste es una substancia útil (glucosa, NaCl), o como cuando de varios metales pesados sólo es absorbido el hierro y poco o nada el manganeso, tan próximo a él químicamente.

El agua es siempre absorbida en la parte alta del intestino delgado y por más que se beba nunca se logra hacer más flúidas las heces, por lo menos por el mecanismo de la falta de absorción. El NaCl y el azúcar, administrados *per os*, casi nunca aparecen en las heces (el escaso NaCl de éstas, deriva de las secreciones, y el azúcar sólo se encuentra en las heces de los lactantes consecutivamente a trastornos digestivos gravísimos) ; también son rápidamente absorbidos los yoduros, que no llegan al intestino grueso. Por el contrario, son muy poco reabsorbidos los iones SO_4 presentes en forma de sulfatos de Na o de Mg, los cuales permanecen en el intestino y atraen agua por vía osmótica o por acción desimbibente de la mucosa (acción purgante).

En general, un gran volumen de agua es absorbido en el intestino y llevado a la sangre : el intestino *aspira*, en cierto modo, desde su interior hasta la sangre un líquido que contiene disueltos los principios nutritivos elementales. Se han dado explicaciones groseras sobre este

(1) *Klin. Woch.*, 1922, n.° 3.

mecanismo de aspiración, pero con poco éxito. De la misma manera que el epitelio renal (pero en dirección distinta), el epitelio de las vellosidades tiene una *polaridad*, extrae *electivamente* materiales de un lado (tubo intestinal) y los traslada a otro (sangre o linfa), realizando un *trabajo* que frecuentemente está en contra de las fuerzas osmóticas y de imbibición. Es una actividad *vital*, que por ahora no podemos hacer más que describir, pero no explicar completamente.

Adviértase el gran movimiento de agua que, como hace notar SCHADE, acompaña a la digestión : varios litros de líquido son segregados en forma de secreciones digestivas, y una gran parte de este líquido es reabsorbido, tanto en el intestino delgado como en el grueso. Esta corriente de agua favorece la dispersión creciente de los materiales contenidos en el tubo digestivo y arrastra a la sangre los productos terminales, presentando el máximum de dispersión.

Si queremos estudiar algunas de las *alteraciones fundamentales de la digestión intestinal*, deberemos citar, ante todo, las consecuencias de la falta de flujo biliar *(acolia intestinal* y, por lo tanto, *acolia de las heces)* ; el efecto principal consiste en la utilización mucho más defectuosa de las grasas, de las cuales un 80-70 %, o por lo menos un 50 % pasan a las heces sin ser absorbidas (mientras que normalmente, solo un 10 % escaso de las grasas alimenticias escapa a la absorción.

Esta grasa que no se absorbe, aparece en las heces en forma de cristales constituídos por agujas *cortas*, que hervidas con ácido acético se convierten en gotas, de las que por enfriamiento vuelven a formarse cristales aciculares de ácidos grasos, largos y característicos. Los cristales cortos ya citados, calentados con H_2SO_4, forman cristalitos de yeso. Son, pues, en gran parte jabones de cal. Además, se encuentran verdaderas gotitas de grasa (1), solubles en éter (en el cual no se disuelven los jabones), y cristalitos preformados de ácidos grasos. Pero, en conjunto, en los casos de *déficit biliar* no disminuye la escisión de las grasas, es decir que no se encuentra mayor cantidad de grasa neutra que en condiciones normales aun cuando disminuya la absorción, por lo cual el gran contenido en grasas es debido especialmente a los jabones y ácidos grasos. Las heces, por ser ricas en jabones y ácidos grasos, son de aspecto untuoso, decoloradas por falta de pigmento y voluminosas ; no es cierto que presenten un desarrollo espe-

(1) Después de una abundante ingestión de leche o de grasa con punto de fusión bajo pueden encontrarse normalmente verdaderas gotas de grasa, así como también se encuentran normalmente algunos cristalitos aciculares de ácidos grasos. Con frecuencia es difícil decir dónde comienzan los estados patológicos, pero el trabajo diagnóstico es muy sencillo empleando una *comida de prueba intestinal*, como la de SCHMIDT, que da en el sano deposiciones *típicas* y por lo tanto permite reconocer mejor las variaciones patológicas.

Limitándonos a las grasas, además de la prueba con ácido acético en caliente, es útil la tinción con colorantes específicos : un método recomendable consiste en tratar en caliente la extensión de heces sobre un portaobjetos con solución de Sudan III en alcohol acético, en cuyo caso aparecen *todas* las grasas en forma de gotas rojas ; otro consiste en la coloración con solución acuosa concentrada de sulfato de niblau (las grasas neutras se tiñen de rojo, y los ácidos grasos, de azul).

cial de los fenómenos de putrefacción (STRASSBURGER) si el régimen no es excesivamente cárneo, como sucede frecuentemente, porque los médicos temen demasiado la administración de grasas en estos casos. La digestión y absorción de las proteínas e hidratos de carbono no están muy alteradas.

Las alteraciones de la secreción pancreática son mejor conocidas desde que se ha introducido el empleo del *sondaje duodenal de* EINHORN. De este modo se tiene una idea más precisa, se sabe en qué medida los fermentos del páncreas llegan al duodeno, ya que su investigación en las heces está sujeta a muchos errores (la liposa del páncreas no llega a las heces del adulto ; de la tripsina sólo llegan indicios, y además se distingue mal de la erepsina o de los fermentos proteolíticos bacterianos ; la amilasa del páncreas se confunde con la del jugo intestinal).

En general, por *déficit* de la secreción pancreática (oclusión del conducto excretor, esclerosis del páncreas, etc.) hay una insuficiente digestión de las grasas : el 50-85 % de la grasa alimenticia pasa a las heces en forma de grasa neutra (heces terrosas o además oleosas), sufriendo en este caso la escisión de las grasas (normalmente el 25 %, puede no ser escindido ; en caso de insuficiencia pancreática el 75 %, por término medio, queda sin desintegrar) aun cuando no nos podamos fiar — según los datos más recientes — de la absoluta certeza de esta ley. Parece, efectivamente, que a veces las grasas pueden ser moderadamente escindidas, a pesar de la falta de jugo pancreático, quizás por acción de las bacterias. La parte escindida está frecuentemente en forma de ácidos grasos, fácilmente reconocibles, quizás porque falta la cantidad suficiente de álcali para su saponificación. También la digestión de las proteínas está alterada (heces pútridas, abundantes residuos de carne) y también la de los núcleoproteidos (prueba de los núcleos positiva : véase más arriba). Puede perderse hasta un 25 % del N alimenticio, Es interesante que los efectos de la falta de flujo de jugo pancreático pueden ser a veces ligeros, si ésta depende de la simple oclusión del conducto, mientras que son más graves si es efecto de la destrucción del parénquima glandular, tanto que se ha supuesto que en la oclusión sencilla los fermentos pancreáticos podían, por lo menos, mientras existe parénquima activo, ser reabsorbidos por la sangre y eliminados después por el intestino, o que los principios pancreáticos obran como una hormona sobre la mucosa intestinal elevando la actividad de sus glándulas (1), concepto que se acerca a las ideas sostenidas por LOMBROSO acerca de las grasas.

La secreción del jugo intestinal puede estar aumentada ; muchas diarreas son debidas a un exceso de secreción intestinal más que a una alteración de la absorción de agua o a hipermotilidad intestinal. Poco sabemos acerca de sus disminuciones patológicas.

Son muchas las causas que pueden comprometer la absorción normal, prescindiendo de las que reducen la descomposición de los alimentos. De una mezcla de todos los productos de descomposición, éstos pueden ser mal absorbidos por las paredes del intestino delgado, si éstas presentan lesiones graves, flogísticas, ulcerosas, degenerativas (amiloide) o circulatorias (estasis). Son notables los trastornos en la absorción de la grasa y las pérdidas de ésta, que pueden derivarse de la tuberculosis de los ganglios mesentéricos, que son verdaderas estaciones de paso del sistema de los vasos quilíferos. También los gases intestinales, en vez de pasar a la sangre y ser eliminados por el pulmón, pueden permanecer en el canal intestinal a causa de estasis venosa en las paredes del intestino y originar varios trastornos, conocidos del médico que asiste cirróticos, cardíacos, etc.

(1) BRUGSCH, *Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Therap.*, vol. VI.

Por otra parte pueden existir trastornos por exceso de reabsorción cuando por ciertas alteraciones patológicas de la mucosa y, por lo tanto, por disminuir su poder de elección respecto a los materiales contenidos en el interior del intestino, puedan pasar a la sangre varias substancias más o menos nocivas. Parece que el hígado representa un órgano de desintoxicación y de retención de muchos materiales tóxicos absorbidos del intestino. Ha sido muy estudiada la posibilidad de que penetren en la circulación, por permeabilidad anormal de la pared entérica, productos de desintegración proteica incompleta y aun proteínas, dotados aún de su especificidad de origen. En tal caso la vía de entrada gastrointestinal se encuentra, por decirlo así, sin defensa, de la misma manera que se hallan las vías parenterales experimentales respecto a aquellas substancias extrañas a la estructura bioquímica normal del medio orgánico interno ; nos encontraremos, pues, frente a todas las consecuencias (formación de precipitinas, anafilaxia, etc.) que se originan por introducción de proteínas heterólogas en las vías circulatorias. Pertenecen en parte a la *anafilaxia alimenticia* ciertas *idiosincrasias alimenticias*, consistentes en trastornos gastrointestinales, respiratorios (asma), nerviosos y cutáneos (urticaria), consecutivos a la ingestión de ciertos alimentos, que se observan en algunos individuos. No sabemos con seguridad si el hígado tiene una *función proteopéxica*, como asegura WIDAL, esto es, que pueda fijar los productos de desintegración proteica incompleta que han traspasado la barrera intestinal.

6.° *Funciones químicas del intestino grueso. Bacterias intestinales.* — En el intestino grueso se encuentran las materias no digeridas (residuos de azúcar, almidón, proteínas) y los materiales no digeribles, como la mayor parte de la celulosa, etc. Además encontramos la parte no reabsorbida de las secreciones intestinales (los fermentos respectivos) y especialmente de la bilis, y finalmente, epitelios descamados, moco y leucocitos. Todos estos materiales sufren aquí, mucho más extensamente que en el intestino delgado, la acción de las bacterias intestinales. Débense a STRASSBURGER (1) las nociones

(1) Véase SCHMIDT y STRASSBURGER, *Die Fäzes des Menschen*, 4.ª edición, 1915 ; STRASSBURGER, *Zeitschr. f. Klin. Med.*, vol. XLVI a XLVIII.

más precisas acerca del número y funciones de las bacterias del intestino del hombre. Las bacterias viven en el intestino en estado saprofítico y casi podríamos decir en simbiosis con el organismo ; un $^1/_4$-$^1/_3$ de las heces está formado por las bacterias ; el resto por residuos alimenticios y especialmente por residuos de las secreciones digestivas. Pero sólo el 1 % de las bacterias de las heces están vivas, y aun son en menor número las capaces de desarrollarse en medios de cultivo. El interior del intestino es un buen medio para el desarrollo de las bacterias ; pero al mismo tiempo un gran número de éstas muere y queda como material que quizás algunos animales pueden utilizar aun con fines alimenticios. En efecto, muchos herbívoros pueden utilizar el nitrógeno de la asparragina, abundantemente contenida en muchos vegetales, la urea y las mismas sales amoniacales, no porque su organismo absorba como tales y utilice para su restauración material dichos cuerpos nitrogenados, sino porque las bacterias intestinales pueden aprovecharse de la asparragina, de la urea y de los compuestos amoniacales y servirse de su N para construir sus propias proteínas, las cuales, una vez muertas las bacterias, son utilizadas en el intestino como proteínas alimenticias cualesquiera, esto es, desintegradas en aminoácidos, que luego son absorbidos.

Tenemos en estos animales (especialmente en los rumiantes) un ejemplo perfecto de simbiosis entre las bacterias, que ponen a disposición del organismo superior su poder sintético más elevado, y el organismo más perfecto que alberga a estas bacterias y se nutre del protoplasma bacteriano edificado a partir de cuerpos nitrogenados, de los cuales él no podría construir directamente la proteína animal.

En el intestino delgado las bacterias son escasas ; casi faltan en la parte alta y son relativamente poco abundantes en el íleo : esto depende del rápido movimiento del contenido del intestino delgado, de la breve permanencia de la papilla alimenticia y del hecho de que ésta permanece allí periódicamente y no de una manera continua ; quizás también influye la ligera acción antiséptica de los ácidos biliares, liberados por el quimo ácido de las sales respectivas. En el intestino grueso existirían, en rigor, condiciones nutritivas peores : en efecto, los azúcares, las peptonas y los aminoácidos han sido en gran parte absorbidos y el *espesamiento del contenido* por absorción de agua, que se verifica especialmente en la porción distal del intestino grueso debe favorecer menos la vida bacteriana : sin embargo, ésta es mucho más intensa porque hay mucha menos renovación del contenido y la permanencia del material no es periódica sino continua. Pero basta que por oclusión del trayecto del intestino delgado o por parálisis de este tramo intestinal se detenga el contenido en el intestino delgado, para que en él se multipliquen de manera notable las bacterias, preponderando las de la putrefacción.

Los procesos unidos a la vida bacteriana en el intestino son la *fermentación* a expensas de los hidratos de carbono y la *putrefacción* de las proteínas : los dos procesos son en cierta manera antagónicos desde

distintos puntos de vista. La fermentación de los hidratos de carbono afecta especialmente en el hombre al almidón y a los azúcares, dando origen a ácidos grasos inferiores (butírico, acético, valeriánico, propiónico, fórmico, succínico y, si existe gran cantidad de lactosa, como en la dieta láctea, a ácido láctico), a pequeñas cantidades de alcohol y a gases, representados por $^3/_4$ de CO_2, metano, hidrógeno, etc. El contenido intestinal, por predominio de las fermentaciones, es espumoso, poco coloreado, tiene olor de ácidos grasos y es ácido al tornasol.

La putrefacción ataca a las proteínas y da lugar al desarrollo de indol, escatol, cresol y oxiácidos aromáticos a expensas de los grupos aromáticos de las proteínas atacadas ; son cuerpos que, absorbidos en parte, llegan al hígado en donde son oxidados (indoxilo, escatoxilo, véase Parte Primera), copulados con ácido sulfúrico o con ácido glicurónico y eliminados, como ésteres de estos ácidos, por la orina *(indicanuria* — aunque sería mejor decir *indoxiluria* — que revela un aumento de los procesos de putrefacción en el intestino). Además, los gérmenes de la putrefacción actúan sobre los aminoácidos y los modifican formando ácidos grasos por desaminación o aminas por descarboxilación ; estas últimas son frecuentemente tóxicas y tienen aptitudes especiales simpáticomiméticas o parasimpáticomiméticas, explicándose así ciertos trastornos nerviosos que son consecuencia sintomática de la llamada autointoxicación intestinal, en la cual debe admitirse precisamente una exageración de los procesos putrefactivos. Normalmente esta transformación en aminas y su absorción debe quedar mantenida dentro de límites estrechos. Finalmente, en la putrefacción se forman gases, entre los cuales predomina el metano que puede llegar a más del 50 % según A. Schmidt (1), mientras que el CO_2 es menos abundante y menos aún el hidrógeno ; se producen además gases fétidos como el mercaptán, un poco de H_2S y NH_3. En conjunto la putrefacción desarrolla menos gases. Cuando predominan las putrefacciones el contenido intestinal es oscuro, fétido, flúido y claramente alcalino al tornasol. Mientras que la fermentación tiene también lugar en el intestino delgado, en el grueso existe y hasta (en los carnívoros especialmente) predomina la putrefacción : la válvula de Bahuin forma el límite claro más allá del cual no debe pasar la putrefacción Si sucede esto, es ya en condiciones patológicas y entonces, por las razones ya dichas, la putrefacción es particularmente intensa. Esta diferencia de Bioquímica bacteriana en las dos grandes secciones del intestino es debida esencialmente al hecho de que en el intestino delgado existe siempre una pequeña cantidad de azúcar y, en general, de hidratos de carbono en el cual las bacterias hacen presa ante todo (Strassburger) : el medio nutritivo favorece el desarrollo de la fermentación. En el intestino grueso, por el contrario, los azúcares ya han sido reabsorbidos en gran parte, se adelantan las bacterias con acción sobre las proteínas y predominan los fenómenos de putrefacción.

(1) *Klin. der Darmkrankheiten*, Wiesbaden, 1913.

Según interesantes investigaciones recientes (1) sería característica de muchos casos de anemia perniciosa la abundancia de las putrefacciones en el intestino delgado, cuyo contenido adquiriría los caracteres fecaloides del grueso : de donde las hipótesis, no faltadas de fundamento, sobre la patogenia intestinal de dicha anemia y la proposición de una terapéutica dietética con reducción de los proteicos, y hasta operatoria (ano artificial).

¿ Qué importancia tienen estas dos clases de fenómenos ? Los gérmenes de la putrefacción (proteus, en gran parte anaerobios, como el *b. perfringens*, muchos Gram-positivos) colaboran quizás en la desnaturalización de las substancias proteicas, pero originan esencialmente substancias tóxicas o productos, que deben eliminarse. No sabemos ver su utilidad y hasta algunos, como METSCHNIKOFF, han considerado la putrefacción intestinal como causa de senilidad precoz, por una verdadera intoxicación crónica. Afortunadamente los procesos fermentativos tienen a raya a los de putrefacción y son quizás su correctivo natural. El desarrollo rápido y abundante de los ácidos de fermentación representa una antisepsia excelente contra los gérmenes de putrefacción. Las dietas ricas en hidratos de carbono reducen, por lo tanto, los procesos putrefactivos por aumentar los fermentativos, y la dieta láctea es la más antipútrida porque el desarrollo de ácido láctico, que sigue a la fermentación de la lactosa, es causa de una gran limitación en la proliferación de los gérmenes saprógenos (o de la putrefacción). Vemos también cómo fuera del organismo es difícil producir la putrefacción de la leche : hay que hervirla para destruir los gérmenes lactacidógenos o fermentadores de la lactosa (o fermentos lácticos) y luego sembrarla con el *b. putrificus*. Los gérmenes de la fermentación (el *b. coli* se incluye entre ellos) son frecuentemente Gram-negativos : el examen bacterioscópico de las heces, con la observación del predominio de la flora Gram-negativa o Gram-positiva nos dice si predominan los fenómenos fermentativos o los putrefactivos : esta observación tiene sobre todo gran valor para el pediatra (en el niño criado al pecho predomina la flora Gram-negativa en correspondencia con el escaso desarrollo de los fenómenos de putrefacción, de tal modo, que las heces apenas tienen olor ácido, contienen bilirrubina no reducida y son ácidas al tornasol ; en el niño criado con leche heteróloga existe frecuentemente un ligero desarrollo de las putrefacciones por la mayor secreción de jugos digestivos putrescibles, por la presencia de residuos más abundantes de las proteínas de la leche, no digeridas, etc.).

Ya hemos dicho que las fermentaciones tienen importancia, especialmente en los herbíboros, para la digestión y utilización de la celulosa.

También el exceso de fermentaciones, con el desarrollo exagerado de gases, de ácidos irritantes para la mucosa, con la destrucción de azúcares y por lo tanto con una amplia sustracción a la absorción y

(1) SEYDERHELM, *Klin. Woch.*, 1924, n.° 34.

utilización, puede ser perjudicial : citemos solamente el cuadro clínico de la *dispepsia por fermentación*, estudiado por A. SCHMIDT y STRASSBURGER, al que podría oponerse al de la dispepsia por putrefacción.

Los métodos clásicos para formarse una idea del desarrollo de los fenómenos fermentativos en el intestino son : *la prueba de la fermentación « in vitro »*, según STRASSBURGER y SCHMIDT, en un pequeño aparato que permite determinar qué cantidad de gases desarrolla una cierta cantidad de heces por la permanencia durante 24 horas a 37° ; esta prueba debería dar una idea del contenido global en gérmenes gasógenos, admitiendo que la fermentación póstuma *in vitro* corresponda a la que se desarrolla en el intestino grueso ; la *investigación de gérmenes iodófilos* (1) *y de residuos de almidón o de dextrina o de celulosa* en una preparación microscópica por extensión tratada con líquido de LUGOL ; la *determinación de la reacción de las heces* (marcadamente ácida por exceso de fermentaciones), etc.

Es principalmente en el intestino grueso, por la acción reductora de los gérmenes de la putrefacción, donde el pigmento biliar fundamental, la *bilirrubina*, es reducido a *hidrobilirrubina* o *estercobilina*, que da a las heces su coloración normal. Esta transformación es disminuída o abolida cuando disminuyen las putrefacciones (así en el lactante criado al pecho), pero puede a veces ser sustituída, como en el caso de las *deposiciones verdes* de los niños de teta, por otro proceso, la *oxidación* abundante de la bilirrubina a *biliverdina*. No es muy clara la explicación de cómo se forma el pigmento verde por oxidación de la bilirrubina, en vez del pigmento normal oscuro, que es resultado de una reducción. WERNSTEDT (2) ha supuesto que en los casos de diarrea verde se trataba, por ser casos patológicos, de una oxidación de la bilirrubina por obra de oxidasas de los leucocitos salidos de los vasos (flogosis) y destruídos en el canal intestinal. Pero su aparición no es tan seriamente patológica como se desprendería de esta opinión, y se ha observado en ausencia de fenómenos flogísticos de la pared intestinal. Recientemente FREUDENBERG (3) ha observado que el color de las heces está relacionado con su reacción : para una concentración de iones H superior a pH = 5, por lo tanto siempre que predominan las fermentaciones hay oxidación de la bilirrubina (en realidad las heces verdes son más frecuentes en los niños criados al pecho) ; esta oxidación sería catalizada por los metales, como el Fe, Hg (heces verdes en los adultos después de la administración de calomelanos), etc.

SCHMIDT ha aconsejado la *prueba del sublimado* para distinguir si hay y en qué cantidad estercobilina o bilirrubina originaria : las heces,

(1) Recordemos el *granulobacillus butyricus de* GRASSBERGER, varios *leptothrix* y cocos, con granulaciones coloreables en azul por el yodo (llamados también gránulos de granulosa), como gérmenes activos de la descomposición de los hidratos de carbono, que se desarrollan abundantemente en el intestino grueso cuando en él predominan las fermentaciones.

(2) *Monatschr. f. Kinderheilk.*, vol. IV, 1905.

(3) *Klin. Woch.*, 1922, n.° 1.

disueltas en solución concentrada de sublimado, se colorean en rosa por la presencia de estercobilina y en verde por la presencia de bilirrubina (que quizás se transforma en biliverdina por catalisis metálica). Pero la estercobilina (que corresponde a la urobilina de la orina) puede extraerse también con alcohol clorhídrico e investigarse por los medios indicados para revelar la presencia de urobilina en la orina (por ejemplo, mediante la prueba de la fluorescencia con el cloruro de zinc) (1). Claro está que faltan todos los pigmentos si está suprimido el aflujo biliar al intestino (oclusión completa del colédoco).

De todo lo dicho se deduce que el concepto de la desinfección intestinal con pequeñas cantidades de preparados de débil acción antiséptica carece en gran parte de fundamento: en la gran caldera de fermentaciones y putrefacciones, como algún autor ha llamado al intestino grueso, es difícil modificar la flora bacteriana con pequeñas dosis de desinfectantes, especialmente si no queremos dañar a la mucosa, que debe poseer propiedades *vitales*, aun oscuras, pero ciertas, a propósito para mantener a raya la excesiva proliferación de los gérmenes. La dieta es mucho más apta para modificar la flora bacteriana, ya que puede proporcionar un medio de cultivo más a propósito para los gérmenes saprógenos (carne, huevos) o para los fermentativos (hidratos de carbono); y la eliminación de los materiales nutritivos de las bacterias por vaciado del intestino (purgantes) representa en el fondo el mejor medio desinfectante. Pero tanto con los desinfectantes como con los purgantes el médico debe procurar no irritar la mucosa intestinal, que podría ser lesionada en sus propiedades de limitación y de barrera contra las bacterias, y cuyas secreciones o productos de exudación son por otra parte el mejor *pabulum* para las bacterias, especialmente para las de la putrefacción. Es muy racional la *terapéutica absorbente.* actualmente otra vez en boga (a base de carbón, *bolus*, etc.) a propósito para absorber los productos putrefactivos, aminas tóxicas, gases y hasta quizás los mismos cuerpos bacterianos, por materiales pulverulentos de extensa superficie (v. SCHADE).

Las *heces* del adulto sometido a un régimen mixto, son emitidas en la cantidad de unos 100-200 gr. por día. Según LAMBLING contienen un 74,4 % de agua (término medio de la determinación de 15 días); en 100 partes de heces, desecadas a 105°, existen:

Cenizas	12,68
Grasas y substancias no saponificables	17,76
Celulosa	4,80
Substancias proteicas	33,62
Substancias orgánicas no dosificadas	31,14

En las investigaciones de LAMBLING y VALLÉE había 6,65 % gr. de N total, de los cuales 1,27 era soluble en alcohol y pertenecía a la

(1) Ultimamente se han propuesto varios métodos para dosificar la urobilina en las heces y en la orina. Véase un trabajo reciente de OPITZ y BREHME *(Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XLI, pág. 681, 1924), que señalan para las heces humanas un contenido diario de 64-124 mgr. de urobilina (estercobilina).

lecitina, colina y pigmentos; el resto era nitrógeno proteico (en gran parte de proteínas bacterianas). Cosa de un 30 % es proporcionado por substancias no determinadas. Las cenizas están compuestas en gran parte por fosfatos de Ca y de Mg (para los cuales el *intestino grueso es órgano de excreción*) y de un poco de Fe (que también se elimina por vía entérica en el intestino delgado). Podemos considerar como heces típicas las emitidas por el adulto sano después de la comida de prueba de SCHMIDT.

Las heces están compuestas en gran parte — a excepción de las bacterias (véase más arriba) — por productos de secreción intestinal. más que por residuos alimenticios: tanto es así que continúan formándose durante el ayuno. El intestino grueso proporciona una *amplia reabsorción de agua*, con lo cual la papilla flúida del intestino delgado es transformada en la masa fecal más o menos compacta y los jugos digestivos, espesados de esta manera, constituyen las heces junto con escasos residuos alimenticios, con bacterias vivas y muertas y con detritus epiteliales.

Tengamos, pues, presente, que por las heces se elimina parte de la fracción de desgaste de nitrógeno, precisamente la cantidad representada por las secreciones del tubo digestivo, que constituyen junto con las bacterias, las heces del ayuno.

La alimentación, al aumentar la secreción de jugos digestivos, aumenta esta pérdida de N; esto se nota especialmente con los regímenes alimenticios muy excitantes de las secreciones dichas, como la alimentación rica en celulosa u otros materiales poco digeribles.

Si queremos, pues, establecer el origen del N fecal, que como se comprende, no puede faltar nunca en el ayuno total ni en la dieta exenta de N (por ejemplo, en la azucarada de SALOMON y WALLACE), diremos que procede: 1.° de las secreciones, epitelios, leucocitos, etc.; 2.° de los residuos alimenticios o sus productos de descomposición, como bases amínicas, etc.; 3.° de las células bacterianas. El hombre sometido a un régimen mixto ordinario, elimina con las heces cada día cerca de 1,5 gr. de N (cerca de $^1/_{10}$ de la eliminación urinaria), pero no todo es N perdido por el organismo, ya que en parte es N de las bacterias.

El *análisis químico* de las heces no proporciona grandes resultados diagnósticos, si se exceptúa la determinación de la grasa total y la dosificación por separado de la grasa neutra, de los ácidos grasos y de los jabones. El método clásico para determinar la grasa total es el de LIEBERMANN y SZEKELY (1): mediante ebullición con potasa cáustica al 30 % se saponifican todas las grasas; de los jabones que resultan se separan los ácidos grasos por medio del ácido sulfúrico, se disuelven en éter de petróleo y alcohol y se valoran con potasa cáustica alcohólica, usando la fenolftaleína como indicador. Para la determinación separada de las distintas fracciones, véanse los trabajos fundamen-

(1) *Pflüger's Arch.*, vol. LXXII.

tales (1). En las heces normales no se encuentran cuerpos proteicos *disueltos*, y un filtrado de heces no contiene proteínas, proteosas, ni peptonas. Se encuentra moco, reconoscible también al microscopio y núcleoproteidos. La presencia de proteínas disueltas es, pues, indicio de procesos exudativos o trasudativos y acompaña a los estados morbosos generalmente diarreicos. Puede demostrarse la albúmina en el filtrado de las heces diluídas con agua, precipitando primero en frío con ácido acético la mucina y los núcleoproteidos, y buscando las proteínas en el nuevo filtrado, por adición de cloruro sódico y ebullición subsiguiente (2).

Puede tener gran importancia la *investigación de la sangre en las heces*, en los casos en que se sospechen hemorragias del conducto intestinal. Para practicarla es necesario que los individuos hayan permanecido 3-4 días a un régimen exento de carne, y puede recurrirse para ello al espectroscopio o a los métodos químicos, basados generalmente en la acción peroxidásica del pigmento hemático. La hemoglobina se encuentra frecuentemente en forma de hematina y aun algunas veces, según SNAPPER (3), en forma de hematoporfirina, quizá por acción de las bacterias intestinales (4); hasta la hematoporfirina podría ser reabsorbida finalmente y producir efectos tóxicos (5).

---

(1) MÜLLER, *Zeitschr. f. Klin. Med.*, vol. XII; BRUGSCH, *Ibid.*, vol. XLIII y LVIII.

(2) v. SCHLOSSMANN, *Zeitschr. f. Klin. Med.*, vol. XL.

(3) *Wien. Arch. f. innere Med.*, vol. VI, 1923.

(4) KAEMMERER, *Klin. Woch.*, 1923, n.° 25.

(5) Citemos estos métodos recientes para la investigación de la sangre que no se encuentran aún en algunos tratados de semiología.

Reacción de la bencidina, según BOAS: 0,025 gr. de bencidina y 0,1 gr. de peróxido de bario, conservados separadamente en paquetes de papel parafinado, se disuelven en 5 cc. de solución al 50 % de ácido acético; se filtra y se colocan algunas gotas del filtrado encima de una pequeña cantidad de heces (del tamaño de una semilla de cáñamo) extendidas con una varilla de madera sobre un portaobjetos o un trozo de cartón. A los pocos segundos o a lo más tardar a los dos minutos, si la prueba es positiva, aparece un color verde o azul. MERCK perparara unas tabletas de bencidina y BaO_2 que sólo hay que triturar con una varilla de vidrio y disolver en 10 cc. de solución al 50 % de ácido acético: se echan 3-6 gotas de esta solución sobre las heces.

Reacción del guayaco-alcohol-cloral, según BOAS: se extiende en el fondo de una cápsula de porcelana un fragmento de heces del tamaño de una lenteja y se vierten encima 2 cc. de una solución al 70 % de cloral en alcohol, con 10 gotas de ácido acético; se agita y se deja en reposo durante 10 minutos. Después se decanta el líquido extractivo así obtenido en una probeta bien seca, que contiene algunos granos de resina de guayaco bien pulverizada, y se añaden 20 gotas de una solución al 3 % de peróxido de hidrógeno (H_2O_2): si existe sangre, aparece casi inmediatamente una coloración azul.

SECCIÓN II

ORGANIZACIÓN QUÍMICA Y FÍSICO-QUÍMICA DEL PROTOPLASMA Y DE LOS MEDIOS INTERNOS (SANGRE Y LINFA)

CAPÍTULO I

Los fermentos considerados como instrumentos del trabajo químico de las células

El protoplasma tiene una estructura coloidal que, según los casos, se aproxima más a la de un sol o a la de un gel.

Según muchos autores, tienen verdadera estructura de gel las formaciones *paraplasmáticas*, intercelulares o de sostén, que por el contrario recientemente BOTTAZZI, con buenos argumentos, quiere considerar casi como estructuras cristalinas.

Sea como sea, la naturaleza coloidal del protoplasma, con el desarrollo de numerosas y extensísimas superficies, explica la posibilidad de un número enorme de reacciones químicas perfectamente engranadas, que se desarrollan unas junto a otras, sin estorbarse recíprocamente. Se ha dicho por algunos que en la célula más sencilla deben existir como unos compartimentos estancos que la dividen en otras tantas celdas de reacción, y ya en el primer capítulo de este libro hemos aludido a la gran importancia de la *heterogeneidad física* del protoplasma, para explicar la complejidad y variedad de las reacciones que en él se verifican. Podemos enumerar, con LAMBLING, las funciones químicas de la célula hepática: del glucógeno forma glucosa y viceversa; forma urea con el grupo amínico de los aminoácidos; separa la hemoglobina del grupo metálico y con el resto forma bilirrubina; fabrica ácido colálico (de la colesterina ?), lo combina con taurina o con glicocola; acopla el ácido sulfúrico o el glicurónico con derivados fenólicos o indólicos y neutraliza las toxinas; añadamos que quizá transforma las grasas en azúcar, etc. Ahora bien, como hace observar el mismo LAMBLING, el estado coloidal del protoplasma, proporciona

por lo menos, un principio de explicación de esta multiplicidad, y relativa independencia de funciones químicas.

Pero principalmente la presencia de catalizadores orgánicos especiales, de fermentos, es lo que nos permite explicar, en cierto modo, la complejidad reactiva del protoplasma: son los fermentos con su especificidad o, por los menos, si queremos seguir a BAYLISS, con su preferencia de acción, los que hacen comprender porque ciertas reacciones se desarrollan antes que otras; son los fermentos que, siendo coloides o estando unidos a coloides, aceleran de una manera maravillosa reacciones que sin ellos serían lentísimas. Considérese el enorme trabajo químico que se verifica, a una temperatura no superior a 37° aproximadamente, en el hombre que metaboliza diariamente 100 gr. de proteínas y 400 ó 500 gr. entre grasas e hidratos de carbono. Piénsese también en el engranaje perfecto de todas las reacciones orgánicas, que cesan y comienzan a tiempo, una tras otra, también aquí deberá verse la influencia de las enzimas, que son sensibilísimas a las modificaciones de la reacción del medio, así como al aumento de la concentración de los productos de la misma acción enzimática, productos que a veces pueden actuar como activadores de la misma (autocatalisis) o de otras reacciones, o tener acción inhibidora. En resumen, no pudiendo servirse del medio que el químico emplea, más frecuentemente en el laboratorio para acelerar las reacciones, es decir, de la elevación de la temperatura, porque este medio no sería compatible con la explicación consecutiva de los fenómenos vitales, el organismo utiliza el gran mecanismo de la *catálisis*, por medio de catalizadores especiales que son los fermentos, para acelerar las reacciones desintegrativas o sintéticas. Es quizá en un estado patológico, en la fiebre, cuando el organismo, al que vemos actuar siempre *como si tuviese un objetivo bien determinado*, se sirve también, aun que sólo sea entre límites moderados, de la elevación de la temperatura como medio para acelerar ciertas reacciones probablemente defensivas, como la combustión de venenos bacterianos, o de proteínas heterólogas o heterogeneizadas.

Los mismos fermentos, en ciertos casos, tienen acción protectora o defensiva contra las alteraciones de la integridad bioquímica del organismo: frente a la introducción parenteral de proteínas, hidrados de carbono y grasas el organismo reacciona haciendo aparecer en la sangre unos fermentos, que ABDERHALDEN ha descrito con el nombre de *fermentos defensivos* o *protectores (Abwehrfermente);* son específicos en cuanto la introducción parenteral de proteínas hace aparecer fermentos proteoclásticos, la inyección de azúcares hace aparecer fermentos inversores o sacarolíticos, y la de grasas da lugar a la aparición de lipasas. Según la teoría desarrollada por ABDERHALDEN (1), la penetración en la sangre de substancias extrañas a la composición normal de ésta, aun la de proteínas corpóreas diversas de las normales

(1) *Abwehrfermente*, 4.ª edición, Springer, 1914.

de la sangre, como por ejemplo *proteínas de los órganos*, va seguida de la aparición de fermentos defensivos más o menos específicos, la mayor parte de las veces contra las proteínas. Así la penetración de proteínas hepáticas provocaría la aparición de fermentos aptos para desintegrar las proteínas hepáticas; la penetración en las vías circulatorias de proteínas ovulares en la embarazada haría aparecer en la sangre fermentos capaces de digerir las proteínas ovulares, etc. De esta teoría se ha derivado la proposición de un *serodiagnóstico del embarazo*, basado en el principio de que el suero de embarazada debería digerir las proteínas placentarias (demostración por medio del método óptico o por medio de la diálisis), abandonado actualmente como método práctico por su mucha inseguridad. También han decaído la mayor parte de las aplicaciones de la teoría de ABDERHALDEN al diagnóstico médico (investigacion de los fermentos del tiroides, de otros órganos endocrinos, del tejido nervioso, etc., en el suero de los enfermos de afecciones tiroideas, endocrinopatías diversas, enfermedades nerviosas, etc., fundada en que el órgano enfermo lanzaba a la circulación proteínas que obraban como substancias extrañas, aptas para excitar la producción y aparición en el suero de la sangre de fermentos defensivos específicos). Recuérdense la serie de experimentos llevados a cabo por este biólogo, no abandonados aún por él (que propone un nuevo método *directo*, para la demostración de sus fermentos) con objeto de demostrar la complejidad de funciones de los fermentos en el organismo, tanto en condiciones normales como patológicas, experimentales y naturales (1).

Finalmente, el organismo dispone también de instrumentos aptos para inhibir la acción excesiva o no regular de los fermentos: son los *antifermentos*, acerca de cuya naturaleza real existen dudas, ya citadas en su lugar correspondiente. Es cierto que después de la muerte la célula es presa de la acción de sus propios fermentos desintegrativos internos *(autolisis postmortal)* que obran ya sin freno, como si al cesar la vida cesara la resistencia que antes sólo consentía a los mismos fermentos una acción limitada, disciplinada y equilibrada; también es cierto que después de la muerte muchos tejidos son atacados por fermentos que antes no les afectaban en nada, como el estómago que entonces es digerido por su propio jugo gástrico. Pero no se sabe con seguridad si esta resistencia es debida a antifermentos o a características estructurales especiales de la substancia viva.

(1) Véase la revista *Fermentforschung*.

CAPÍTULO II

La permeabilidad de las membranas celulares

Es este un punto de gran importancia para la Biología celular: las células entran en relación con el medio exterior a través de su superficie; este *medio exterior*, para las células de los tejidos de los metazoos, es un líquido intersticial, la linfa, la sangre, la hemolinfa (en los invertebrados), en el cual las células encuentran los materiales nutritivos y en el que vierten los productos de su metabolismo; mientras que es el mundo exterior para los organismos inferiores, monocelulares o formados por pocas células.

Las células animales no tienen generalmente una *membrana* bien distinta, o no siempre se revela al microscopio como provista de una estructura morfológica bien caracterizada. Pero es cierto que las capas superficiales del citoplasma tienen propiedades peculiares y funciones de fundamental importancia respecto al recambio de materiales entre la célula y el exterior, por lo cual es lícito hablar, refiriéndose a cualquier célula, exista o no una envoltura visible, de *membrana en el sentido bioquímico funcional*, para designar la superficie de contacto entre la célula y el medio celular.

Una membrana puede ser permeable a las substancias que se ponen en contacto con ella, por varias razones: la substancia con la que se encuentra en contacto puede tener dimensiones moleculares inferiores a las de los espacios intermoleculares o poros de la membrana y entonces ésta actúa como una criba, dejando pasar las substancias de moléculas pequeñas, pero reteniendo otras de moléculas mayores. También pueden ciertas substancias ser solubles en el material constitutivo de la membrana; así una membrana de paladio es permeable al hidrógeno, pero no al oxígeno, porque con el primero forma un compuesto lábil (reversible) y también porque aquel gas es soluble en el citado metal.

Hay ciertas membranas (de pergamino, de gelatina, de colodión) que son permeables al agua y a los cristaloides (sean éstos electrólitos, como las sales, o no, como los azúcares) pero no a los coloides, y con ellas se forman los dializadores. Existen membranas impermeables a ciertos coloides y permeables a otros, como aquellas con las cuales se

hacen los ultrafiltros. En este caso, evidentemente, los resultados dependen del tamaño de los poros del material de la membrana, respecto a las dimensiones moleculares de las substancias citadas: ciertos coloides son retenidos, porque sus moléculas no pasan a través de los poros de la membrana, y actualmente se conocen escalas de ultrafiltros con poros de dimensiones variables, con los cuales se pueden separar entre sí coloides diversos (BECHHOLD), según el tamaño de los ultramicrones que los constituyen.

Existen, por otra parte, membranas naturales y artificiales, que, siendo permeables al agua, son más o menos impermeables a los cristaloides o a muchos de estos y que se comportan, pues, como *membranas semipermeables* en el sentido explicado en la parte I. Si estas membranas se colocan en un osmómetro, es decir, si se hacen servir de tabique separador entre el agua pura y una solución de un cristaloide que no sea permeable para ellas, *revelan* la presión osmótica ejercida por el cristaloide disuelto, porque, no pudiendo permitir la difusión de éste hacia el agua pura, obligan en cierta manera a ésta a pasar hacia la solución del cristaloide y diluirla hasta determinar una presión hidrostática que contrarreste la presión osmótica. Si imaginamos que la membrana semipermeable forma una envoltura esférica que encierra la solución y que es elástica, el agua penetrará hinchando y distendiendo la membrana hasta que la tensión elástica producida por ésta contrarreste la presión osmótica de la solución interna. Según la teoría de TRAUBE, también las membranas semipermeables obran a manera de criba, presentando poros de tal finura que permiten el paso de las moléculas del disolvente, pero no de las del cuerpo disuelto. Son membranas de esta clase las de ferrocianuro de cobre (coloidal), preparadas por TRAUBE y tantas otras membranas *de precipitación* (llamadas así porque se obtienen haciendo formar en los gruesos poros de un cilindro de porcelana un precipitado que los llena y constituye la capa semipermeable a la que el cilindro hace de sostén); también éstas pueden graduarse de manera que admitan más o menos a los cristaloides. No existe una membrana semipermeable de una manera absoluta, esto es, impermeable a *todos* los cristaloides: en efecto, hasta las mejores membranas de ferrocianuro de cobre son permeables, por ejemplo, al cloruro amónico y al cloruro potásico. Debe advertirse que, al hablar de permeabilidad o semipermeabilidad de las membranas, no son sólo las dimensiones de las partículas permeables y de los poros lo que influye, sino que intervienen otros factores: la adsorción del cuerpo disuelto o del disolvente por la substancia de la membrana, la *hidratación* de las moléculas o, más frecuentemente, de los iones de un cuerpo disuelto que, circundados de una corona de moléculas de agua, pueden dificultar notablemente su paso. Ahora bien, las capas que limitan el protoplasma, las membranas celulares, se comportan a veces — respecto a muchos cristaloides — como verdaderas membranas semipermeables: el agua es admitida en los dos sentidos, pero no lo son los cristaloides dichos. Esto ha sido demostrado por los célebres

experimentos de DE VRIES, de PFEFFER y de TRAUBE, en las células vegetales: una lámina epitelial de una hoja de *Tredescantia* sumergida en una solución de azúcar de concentración molecular más elevada que la de su contenido, presenta en las células grandes y ricas en jugo que la componen el cuadro de la *plasmolisis*, o sea de la contracción y desprendimiento del protoplasma de la membrana celulósica, espesa y rígida, por la pérdida de agua del contenido celular debida al paso del agua, según las leyes de la ósmosis, del interior hacia el exterior donde está la solución más concentrada *(hipertónica)*. Si la hoja de *Tredescantia* es sumergida en una solución de azúcar de concentración molecular menor que la del protoplasma (o sea *hipotónica)* las células se hinchan, porque el agua penetra del exterior. Será *isotónica* con el protoplasma, esto es, tendrá la misma concentración molecular que éste, aquella solución de azúcar que no producirá plasmolisis ni hinchazón de las células; esta solución, en igualdad de volumen, contendrá tantas moléculas de azúcar cuantas sean las moléculas impermeables para la membrana (de cualquier naturaleza: azúcares, sales, etc.) que tenga el protoplasma celular. He aquí como la existencia de membranas celulares semipermeables permite orientarse acerca de la presión osmótica que domina en la célula. Las membranas celulares son con frecuencia aun más perfectamente semipermeables que las artificiales; pero para muchas membranas celulares se ha conseguido demostrar un cierto parelelismo de conducta (respecto a muchas sales) con las membranas artificiales, como la preparada por MEIGS, de celoidina impregnada de fosfato de cal (1), que se comporta casi en todo como las membranas de las fibras musculares. En realidad lo que hemos dicho de las células vegetales puede aplicarse a muchas células animales: entre éstas, los glóbulos rojos han sido principalmente objeto de estudios sencillos e interesantes con posterioridad a los clásicos trabajos de HAMBURGER (2). El glóbulo rojo puede considerarse por ahora como una célula de estructura sencilla; con una membrana semipermeable; se hincha en soluciones hipotónicas respecto al contenido del glóbulo, y se encoje en soluciones hipertónicas. Si la hipotonía excede ciertos límites, es decir, si el equilibrio osmótico rebasa un cierto punto (distinto en los diferentes glóbulos rojos, según su edad, condiciones patológicas, etc. y diverso también de uno a otro animal) el glóbulo se hincha tanto que puede imaginarse que la membrana se rompe, se agrieta o se distiende de manera que la hemoglobina sale fuera: este es el fenómeno de la *hemolisis por soluciones hipotónicas*. Veremos que los fenómenos citados tienen una notable complejidad, tanto que no son explicables por los simples procesos osmóticos, pero de todos modos, para mayor claridad de la exposición, podemos por ahora, conservar este concepto esquemático de la estructura del glóbulo rojo, como una vesiculita con una membrana impermeable para las sales, azúcar (1), etc., pero permeable al agua (o sea semipermeable) y llena de una solución salina y de hemoglobina.

(1) *Proc. Soc. f. exper. Biol. a. Med.*, vol. X, pág. 129 ; *American Journal of Physiol.*, volumen XXXVIII, pág. 456.
(2) *Osmotischer Druck u. Jonenlehre*, Wiesbaden, 1904.

Podremos por lo tanto servirnos de la medida de las modificaciones de volumen de los hematíes para determinar aproximadamente la concentración molecular de soluciones de sales o de azúcares: son isotónicas entre sí las soluciones que no producen modificaciones (medibles con el hematocrito) de aquel volumen o que las producen iguales en igual período de tiempo. De la misma manera que los hematíes se comportan las células renales (2) y las musculares (3); es quizá una propiedad general de las células el poseer membranas que se comportan de una manera semejante a las membranas semipermeables artificiales. Pero al multiplicarse las observaciones se ha notado un hecho importante: que existen substancias (alcoholes, aldehidos, cloruros alquílicos, glicerina, urea, etc.) respecto a cuyas soluciones la membrana celular no se comporta como una membrana semipermeable, ya que estas substancias, puestas en contacto con las células en cualquier concentración, no modifican el volumen o lo modifican sólo temporalmente. Recordemos un experimento de OVERTON (4): un músculo de rana en solución de NaCl al 0,7 % no experimenta ninguna modificación de peso, no absorbe ni cede agua: se encuentra, pues, en solución completamente isotónica con el contenido celular; si a la solución de NaCl se añade un 5 % de alcohol metílico, el músculo permanece siempre con las mismas dimensiones y el mismo peso. Y sin embargo, con la adición del 5 % de alcohol metílico se ha aumentado notablemente la concentración molecular y, por lo tanto, la presión osmótica de la solución en que el músculo estaba sumergido; ¿cómo es, pues, que la solución — ahora hipertónica — no ha extraído agua del músculo haciéndole perder peso, como habría sucedido si a la solución al 0,7 % de sal hubiésemos añadido más sal, el mismo NaCl u otra sal o azúcar? La explicación es que el alcohol ha compenetrado rápidamente el músculo, ha podido difundirse libremente por las células musculares, evitando todo motivo de desequilibrio osmótico entre el exterior

(1) No es cierto que los hematíes sean impermeables para la glucosa, o por lo menos no es cierto para los hematíes de todas las especies. Así la impermeabilidad parece cierta para los hematíes de oveja, de cerdo y de ternera y es menos segura para los de perro y hombre ; en efecto KOZAWA *(Bioch. Zeitschr.*, vol. LX) considera estos hematíes como permeables para la glucosa (no para las pentosas), mientras que más recientemente FALTA y RICHTER *(Bioch. Zeitschr.*, vol. C y CXIV) ha negado la permeabilidad de los hematíes humanos para la glucosa, aun cuando después la admiten hasta cierto punto. Verdaderamente muchas veces la permeabilidad demostrada depende de lesiones globulares artificiales que han suprimido la impermeabilidad normal : así lo creen también CREVELD y BRINKMANN *(Biochem. Zeitschr.*, vol. CV y CXIX). Esta breve noticia sirve para demostrar la dificultad de establecer la permeabilidad de las membranas celulares, aun de células de estructura relativamente sencilla y fáciles de estudiar separadamente, y la posibilidad de obtener resultados *artificiales* no aplicables a las células íntegras, por el solo efecto de nuestras manipulaciones.
(2) SIEBECK, *Pflüger's Arch.*, vol. CXLVIII.
(3) BEUTNER, *Bioch. Zeitschr.*, vol. XLVIII.
(4) *Pflüger's Arch.*, vol. XCII.

e interior que tuviese como consecuencia la migración de agua. Si se hubiese añadido una substancia que atravesase la membrana celular, pero muy lentamente, habríamos visto que *primero* habría habido una modificación de volumen y peso celular, porque en un primer tiempo la substancia añadida habría elevado la concentración molecular sólo fuera de las células, por lo cual la corriente osmótica de agua habría tenido ocasión de establecerse, pero después la modificación habría retrogradado porque la substancia, penetrando en la célula, habría acabado por borrar la diferencia de concentración molecular entre dentro y fuera. Por lo tanto, si se sumerge una célula en una solución de un cristaloide y la célula reacciona a las distintas concentraciones de éste con modificaciones *permanentes* del volumen (y del peso por pérdida apreciable de agua) quiere decir que el cristaloide no es permeable para la membrana celular; si las modificaciones del volumen celular son transitorias, significa que el cristaloide atraviesa lentamente la membrana; si son nulas, es señal de que el cristaloide penetra rápidamente dentro de la célula y, por lo tanto, que la membrana no es semipermeable respecto a él y no puede revelar su actividad osmótica.

En cuanto a los coloides, para ellos la membrana celular es generalmente impermeable, pero no siempre: los fenómenos de secreción demuestran el paso de masas coloidales de ciertas secreciones de dentro a fuera de la célula; las células de los endotelios vasculares en condiciones patológicas dejan filtrar líquidos más o menos ricos en proteínas del plasma, como sucede de manera típica en la inflamación, aun cuando no sabemos si esta filtración se verifica a través de las células o, por medio de éstas, a través de la substancia cementante alterada y más o menos licuada (transformada *en sentido soloide*, como diría SCHADE).

Si queremos estudiar ahora qué substancias, entre los cristaloides son permeables a la célula y cuáles no, nos encontraremos con una ley fundamental, demostrada independientemente por OVERTON y por MEYER (1899): en general, son capaces de atravesar las membranas celulares todas las substancias que son *solubles en los lipoides* o, para hablar con mayor exactitud, que son solubles en los disolventes de los lipoides o que por sí mismas son disolventes de los lipoides. Así vemos que el alcohol, muchos aldehidos, el éter, el cloroformo, en menor grado la urea y la glicerina, y además toda la serie de los colorantes *vitales* (tipo de ellos el azul de metileno), todas cuyas substancias son más o menos solubles en los disolventes de las grasas o que por sí mismas son disolventes de éstas, atraviesan más o menos rápidamente las membranas celulares. De aquí deriva la *teoría de* OVERTON sobre la *naturaleza lipoide de las membranas celulares;* los lipoides formarían la capa límite de todos los citoplasmas, y las substancias exteriores a la célula solamente podrían penetrar en ella si eran solubles en estos lipoides, de la misma manera que una membrana de caucho es permeable al cloroformo, que se disuelve en el caucho, pero no al

alcohol que no se disuelve en él o se disuelve menos. Los colores básicos (azul de metileno, rojo neutro, safranina, tionina, etc.) han sido los que han venido a demostrar esta teoría: estos colores penetran en el organismo (por ejemplo en los renacuajos sumergidos en una solución de los mismos), para lo cual atraviesan las membranas celulares y por lo tanto son más o menos liposolubles. Otras e importantes consecuencias ha deducido OVERTON: así la urea penetra, pero muy lentamente, mientras que sus derivados metilados, de solubilidad creciente en las grasas (mono-di-trimetilurea) son cada vez más rápidamente permeables para la célula. Además OVERTON ha hecho la demostración importante de que los narcóticos (alcohol metílico y sus homólogos superiores, éteres, etc.) actúan sobre las células en proporción de su coeficiente de repartición $\frac{\text{aceite}}{\text{agua}}$. En efecto: si se añade el narcótico al agua en que están los renacuajos se puede determinar fácilmente cuál es la concentración crítica o concentración mínima del narcótico en el agua para producir la narcosis (suspensión temporal, perfectamente reversible, de las manifestaciones vitales) de los animales. Así se ve que la concentración crítica es mínima, es decir, que el poder narcótico es máximo, para los narcóticos que tienen el máximo coeficiente de repartición (definido en la pág. 30) a favor del aceite en el sistema $\frac{\text{aceite}}{\text{agua}}$, y que generalmente existe una correspondencia entre estos valores. Esto demostraría que el narcótico se disuelve en los lipoides celulares (especialmente en el sistema nervioso que es muy rico en éstos) y que actúa en proporción de esta solubilidad en los lipoides. En el organismo tenemos el sistema de disolventes $\frac{\text{lipoides celulares}}{\text{plasma sanguíneo (acuoso)}}$, y el narcótico se reparte entre los dos disolventes como se repartiría *in vitro* entre el aceite u otra grasa y el agua: se comprende, por lo tanto, que actúe tanto más cuanto mayor sea la solubilidad en los lipoides de las células nerviosas y menor la solubilidad en el plasma sanguíneo. Esta es la *teoría de la narcosis* de OVERTON (1), íntimamente ligada a la hipótesis de la naturaleza de las membranas celulares, sobre la cual insistiremos. Digamos solamente por ahora que las células pueden ser permeables a las substancias liposolubles, mientras que su membrana se comporta como si fuese normalmente impermeable a muchos cuerpos, sales, azúcares, aminoácidos, que no se disuelven en los lipoides. ¿Pero estas membranas celulares son verdaderamente y siempre impermeables para tales cuerpos? En realidad, si analizamos las diferencias de contenido salino entre ciertas células y su medio ambiente debemos admitir la impermeabilidad de la membrana para las sales o por lo menos una combinación tenaz de las sales o de sus iones en el protoplasma: los glóbulos rojos del

(1) *Studien ueber Narkose*, Jena, 1901.

conejo contienen un 5,23 ‰ de K, mientras que el plasma en que están sumergidos estos glóbulos sólo contienen 0,26 ‰ , y en este líquido encontramos 4,44 ‰ de Na, mientras que en los hematíes sólo hallamos indicios: he aquí, según Bayliss (1) una prueba de la impermeabilidad normal de la membrana del glóbulo para el K y el Na, ya que no puede pensarse en una fijación irreversible de estos metales sobre los coloides del glóbulo o del plasma. Además, la notable resistencia de los tejidos al paso de la corriente eléctrica es una prueba de la impermeabilidad de las membranas celulares para los iones (vectores de la carga) mientras que seguramente dentro de la célula existen electrólitos en estado libre, no combinados todos con los coloides (2).

Pero además, si reflexionamos sobre los procesos fisiológicos más elementales debemos admitir que también substancias no solubles en los lipoides (sales, azúcares, aminoácidos) pueden penetrar en la célula y salir de ella según las necesidades nutritivas de ésta. Se puede comprobar que las células desintegran su protoplasma durante los procesos vitales y lo reconstruyen continuamente y esto precisamente necesita una entrada y salida de substancias que en las experiencias acerca del comportamiento osmótico de las células no se revelan como capaces de penetrar en ellas.

Esto nos obliga a reconocer que la permeabilidad para los cuerpos liposolubles, como muchos narcóticos y alcaloides, es algo extrafisiológico, es una permeabilidad *física* a la que está sometida la célula, mientras que debe existir una permeabilidad *fisiológica*, activa, casi diríamos selectiva, que tiene un carácter *esencial: la variabilidad* según los períodos funcionales de la célula.

Esta permeabilidad, más propiamente fisiológica, que debe permitir el paso incluso a las sales y a otras substancias *en contra* de su insolubilidad en los lipoides, es aun muy oscura en su esencia, pero podemos afirmar que está muy lejos de ser constante. Muchísimos factores modifican la resistencia de las membranas celulares a dejarse atravesar y enumeraremos brevemente algunos hechos que demuestran esta variabilidad de las condiciones de permeabilidad celular. Lillie (3) observó que las larvas de *Arenicola*, que en el agua de mar conservan su pigmento, lo dejan difundir al exterior si están en una solución de NaCl isotónica con el agua del mar: el pigmento, pues, se difunde porque el NaCl altera la membrana de las células, que normalmente es impermeable; pero la alteración es inmediatamente evitada si se añade al NaCl una pequeña cantidad de $CaCl_2$. Siebeck (4) encontró que el músculo de rana se hincha en solución pura y completamente isotónica de KCl, porque éste altera las membranas y las hace permeables a la sal potásica, que compenetra las fibras musculares, mientras que la presencia simultánea de Na y de Ca mantiene

(1) *General Physiol.*, Londres, 1920.
(2) Hober, *Pflüher's Arch.*, vol. CXXXIII, 1910.
(3) *Biol. Bull.*, vol. XVII, pág. 188, 1909.
(4) *Pflüger's Archiv.*, vol. CL, pág. 316.

a la membrana impermeable para el K. Parece demostrarse así que el Ca *tiene una acción espesante sobre las membranas celulares*, pues las hace menos permeables, mientras que *el* Na *y el* K *tienen una acción disolvente, licuante* o *permeabilizante;* he aquí un antagonismo que debe tenerse presente y sobre el cual insistiremos.

También el azúcar de caña, en solución isotónica (cerca del 7,8 %) modifica las membranas celulares, pues parece que aumenta su permeabilidad, según varios hechos citados por Bayliss (1); en cambio, Handowski incluye el azúcar de caña entre las substancias que aumentan la densidad de las membranas celulares, de la misma manera que las sales de Ca, las sales de metales pesados y en general muchos agentes coagulantes para los coloides (2).

Es particularmente interesante la relación entre el aumento de la permeabilidad de las membranas celulares y el estado de excitación de la célula, puesto en evidencia por Lillie (3), quien vió que las larvas de *Arenicola* se contraían fuertemente por la acción de la solución isotónica de cloruro sódico a la vez que expulsaban el pigmento amarillo, y luego encontró que este aumento de permeabilidad *paralelo al estado de excitación* era inhibido, junto con las contracciones musculares, por varios narcóticos. Lillie llegó a la conclusión de que la acción narcótica estaba relacionada con una disminución de permeabilidad de la membrana, de la misma manera que la excitación está relacionada con el aumento de la permeabilidad. También en la excitación de los nervios, como en la excitación de los músculos de los animales superiores, se ha demostrado el aumento de permeabilidad de la membrana: nos encontramos en este caso con una suspensión de un cierto estado de polarización que preexistía y era debido a la impermeabilidad de la membrana respecto a determinados iones, con permeabilidad para algunos otros (4). Pero sería prolijo querer profundizar en estas difíciles cuestiones de Fisiología general del nervio y del músculo: véase para ello el libro de Bayliss y una monografía reciente de Lasareff (5).

Lo dicho basta para demostrar que la permeabilidad fisiológica es modificable y que su mecanismo no puede regirse de un modo absoluto por las leyes generales de la liposolubilidad.

En realidad, hoy ya no puede sostenerse que la membrana celular esté constituída exclusivamente por lipoides: la simple consideración de que en el protoplasma existen muchas substancias, además de los lipoides, capaces de disminuir la tensión superficial y que, por lo tanto,

(1) Obra citada, pág. 125.
(2) *Klin. Woch.*, 1923, n.° 40.
(3) *Amer. Journ. of Physiol.*, vol. XXVIII-XXX.
(4) Si una membrana deja pasar un ión de una sal, por ejemplo el catión, y retiene otro, el anión, el que pasa no puede alejarse mucho de la membrana por la acción de la fuerza electrostática: quedan así los cationes a un lado de la membrana y los aniones al otro, y se dice que la membrana está polarizada (doble capa de Helmholtz) porque tiene en las dos caras dos cargas de signo contrario.
(5) *Jonentheorie d. Reizung.* Bircher, Berna, 1923.

tienden a concentrarse sobre las superficies limitantes, induce a suponer que no sólo los lipoides, sino también otros constituyentes especialmente las proteínas, contribuyen a formar la membrana superficial. Por este motivo se ha hablado de una *estructura de mosaico* de la membrana: las proteínas y los lipoides se encontrarían unas al lado de otros formando la membrana e influirían en la penetrabilidad de las substancias hidrosolubles y de las liposolubles. Pero todas estas concepciones son excesivamente simplistas. La membrana no es más que una parte, la que se encuentra en contacto inmediato con el medio, del complejo sistema coloidal que constituye el protoplasma y es capaz de experimentar modificaciones diversas en relación con todo cuanto modifica aquel sistema. Se trata de una estructura quizás comparable a una emulsión, en la que los lipoides y las proteínas embebidas de agua forman las dos fases, siendo probable que cada fase actúe como fase continua o fase dispersa, según el estado funcional del protoplasma, de lo cual seguramente derivan notables variaciones de la permeabilidad. Esta no debe traer sólo como consecuencia la solución, sino también la adsorción de las partículas de la fase dispersa de la emulsión y quizá algunas veces la aparición de combinaciones químicas lábiles. Así como la superficie de la célula se resiente de lo que sucede en el interior, de la misma manera toda la célula se resiente de las modificaciones de la superficie: existen substancias que actúan poderosamente sobre la célula, entrando en relación sólo con la superficie de ésta y que aun cuando penetran en la célula sólo obran sobre ella durante el paso a través de su superficie, y poco o nada una vez entradas. Warburg, por ejemplo, ha visto (1) que los huevos fecundados del erizo de mar aumentan extraordinariamente sus procesos de oxidación (consumo de O_2) cuando se les añade una pequeña cantidad de hidrato sódico, aunque el hidrato sódico no penetra en las células, como lo demuestra su coloración preliminar con un indicador adecuado (rojo neutro); por el contrario, el hidrato amónico penetra en la célula pero aumenta poco o nada las oxidaciones. Bethe (2) ha visto que la motilidad de los tentáculos de la medusa se reduce por la presencia de ácidos en el medio, aun cuando éstos no penetren en las células contráctiles.

Straub (3) ha podido demostrar que la acción de los iones de K y de Ca sobre el corazón se verifica sobre la membrana de las fibrocélulas musculares: es tan inmediata que sería difícil admitir la difusión de aquellos iones en el interior de la fibrocélula. La acción de la muscarina sobre el corazón de *Aplisia* (4) es también una acción de superficie que se mantiene mientras dura el paso del alcaloide a través de la membrana celular, y cesa cuando el alcaloide ha sido almacenado en el interior de la célula. Neukirsch (1), estudiando más tarde la acción excitante que posee la pilocarpina sobre el tono del intestino delgado del conejo, pudo comprobar que corresponde al paso del alcaloide de dentro a fuera de las células musculares o viceversa, pero que cesa si existe equilibrio de concentración entre el interior y el exterior, sea cual fuere el valor absoluto de esta concentración.

(1) *Zeitschr. f. phys. Chem.*, vol. LXVI y LXIX.
(2) *Pflüger's Arch.*, vol. CXXIV-CXXVII.
(3) *Verhand. Gesellsch. deutsch. Naturforsch. u. Aérzte*, 1912.
(4) *Pflüger's Arch.*, vol. CXIX.

También muchas formas de *hemolisis* se explican por la acción sobre los constituyentes de la membrana: parece comprobado que la diversa resistencia de los hematíes de las distintas especies animales a los diferentes agentes hemolíticos está en relación con el distinto punto de ataque en el glóbulo y con la diversa riqueza en lipoides y proteicos del glóbulo, según sea la especie zoológica. Ryvosh (2) ha podido demostrar que la saponina actúa sobre los lipoides, mientras que las soluciones hipotónicas obran sobre los demás constituyentes; por varios motivos se admite que la saponina obra precisamente sobre la colesterina del glóbulo. Son frecuentemente citadas las investigaciones de Pascucci (3), quien relaciona la hemolisis con la composición química del estroma del glóbulo y, de una manera especial, de la membrana; sin embargo, nosotros transcribiremos la concepción moderna de Bechhold acerca de la estructura del glóbulo rojo por ser la que mejor sirve para explicar la acción sobre las membranas celulares y para la comprensión de la estructura de éstas.

El hematíe, según este autor, tiene una estructura mucho más complicada que la que esquemáticamente se admitía al principio, cuando sólo considerábamos la semipermeabilidad de las membranas. Según Bechhold (4), Bechhold y Kraus (5) y Salen (6), que han realizado un análisis preferentemente ultramicroscópico de los hematíes, éstos están compuestos de un estroma reticular delicado, pero no precisamente sólido, constituído por un albuminoide en estado de imbibición, quizá un núcleoproteido, insoluble en agua y en solución fisiológica (una especie de telaraña, dice Bechhold) que no llenaría, sin embargo, el interior del glóbulo, sino que sólo estaría colocado en la periferia como la red de un globo aerostático. Las mallas del retículo estarían llenas de lipoides (lecitina y colesterina), la primera en estado de imbibición y la segunda (que no es hidrófila) disuelta en la primera (de manera que formarían una mezcla ópticamente homogénea).

La envoltura de los hematíes estaría pues formada por tres constituyentes: el proteido, la lecitina (ambas en estado de imbibición) y la colesterina. La parte interna contendría una solución densa de hemoglobina y de sales. Todo lo que modifica el estado de imbibición de los dos primeros componentes, que separe la lecitina de la coles-

(1) *Id.*, vol. CXLVII.
(2) *Id.*, vol. CXVI.
(3) *Beitr. z. chem. Phys. u. Path.*, vol. VI, 1905.
(4) *Münch. med. Woch.*, 1921, n.° 5.
(5) *Bioch. Zeitschr.*, vol. CIX.
(6) *Id.*, vol. CX.

terina o que de algún modo altere las relaciones mutuas entre los tres componentes de la envoltura, producirá hemolisis, esto es, la rotura de la envoltura y la expulsión de la hemoglobina. *Por lo tanto, no solamente afecta a la membrana celular lo que afecta a los lipoides, ni tampoco son éstos los únicos constituyentes y los únicos responsables de los cambios entre la célula y el medio ambiente* o de la influencia que el medio ambiente pueda ejercer sobre la célula.

Si quisiéramos insistir brevemente en la cuestión de la narcosis, deberíamos recordar que, según LOEWE (1) los colores básicos no se disuelven propiamente en los lipoides, sino que se adsorben en su superficie: así pues, si las células tienen membranas lipoidales, éstas fijan los colores y las otras substancias adsorbibles e inhiben su avance consecutivo hacia el interior de la célula en vez de facilitarlo. Los narcóticos, según este mismo autor, son adsorbidos como los colores vitales (básicos) por los lipoides superficiales de la célula, pero los narcóticos tienen el poder, dada su naturaleza peculiar, de transformar en hidrófobos o liófobos los lipoides (por ejemplo, los fosfátidos) que los han adsorbido y que eran hidrófilos o liófilos. En este caso, las substancias disueltas en agua deberían ser menos fácilmente permeables para la célula, dada la transformación en sentido hidrófobo de parte de los constituyentes superficiales: de ahí la disminución de la permeabilidad que sabemos que acompaña a la narcosis. Mas con esto no se llega aún al núcleo de la cuestión.

Otros admiten explicaciones diversas: según VERWORN la narcosis depende de una inhibición de las oxidaciones en las células (las nerviosas serían particularmente sensibles a la deficiencia de oxígeno). Pero no parece que exista una relación directa entre la oxidación y la supresión de las manifestaciones vitales: así WARBURG observó que por medio de narcóticos se puede detener la segmentación del huevo fecundado del erizo de mar, mientras que éste continúa consumiendo oxígeno. También las investigaciones de WINTERSTEIN (2) están en contradicción con la teroría de la relación entre la narcosis y la respiración de los tejidos: según el narcótico que se emplee está aumentada o disminuída la oxidación de la médula espinal de la rana, por ejemplo. Muchos han hecho notar que los narcóticos son substancias que disminuyen en alto grado la tensión superficial, y que por lo tanto tienen una tendencia notable a acumularse en la superficie de las micelas protoplasmáticas *(gránulos respirantes de* WARBURG) (3) expulsando a otros cuerpos de alta importancia fisiológica, por ejemplo substancias destinadas a ser desintegradas y quemadas: podría decirse que el narcótico (éter, cloroformo, etc.) fuertemente ávido de la superficie activa de la célula o de las estructuras celulares, obtiene una victoria fácil sobre los compuestos orgánicos en ella precedentemente absorbidos y destinados a cubrir las necesidades fisiológicas, y que ocupen de este modo dicha superficie y la hace incapaz para servir de asiento a reacciones químicas esenciales, Principalmente WARBURG (1) atribuye la narcosis a un *desalojamiento de adsorbidos*, a una especie de ocupación de la superficie por parte del narcótico. También los iones pueden der desalojados de la superficie dicha, de donde se derivan modificaciones de la carga eléctrica en el sentido, las más de las veces, de reducción o desaparición del potencial. Los narcóticos tienen también una *constante dieléctrica* baja (2), elevan pues, en cierta manera y de un modo notable la fuerza con que se atraen los iones de carga opuesta: he aquí, pues, una causa de nuevos eqilibrios en el sistema coloidal del protoplasma en relación con la reducción o neutralización de las cargas eléctricas. La reducción de las oxidaciones puede, pues, acompañar a la narcosis, pero no es la causa de ella. La narcosis es debida a un desequilibrio profundo y reversible del sistema coloidal del protoplasma, que compromete la libre exterioriación de las funciones vitales y es posible en todas las células, aun cuando en las células nerviosas el efecto es más rápido y delicado.

(1) *Bioch. Zeitschr.*, vol. XLII y LVII.
(2) *Id.*. vol. LI y LXI.
(3) *Pflüger's Arch.*, vol. CLIV.

Estas nociones acerca de la permeabilidad celular son de importancia fundamental para la Farmacología y la Toxicología, así como para la inmunidad: los venenos más diversos, aun aquellos lábiles y de función antigénica, como las toxinas, pueden obrar sobre las células compenetrádolas o modificando su membrana, y si la compenetran pueden *disolverse* en unos u otros componentes celulares, ser *adsorbidos* por éstos o *unirse químicamente* con ellos: no existe intoxicación por los venenos específicos (alcaloides y toxinas) para la cual no se haya discutido esta triple posibilidad de acción. Así, el célebre experimento de WASSERMANN y TAKAKI, de la fijación de la toxina tetánica a la substancia nerviosa, se ha discutido desde este triple punto de vista, más para este asunto nos remitimos a los tratados de Inmunología.

(1) *Bioch. Zeitschr.*, vol. CXIX, 1921.
(2) La constante dieléctrica indica en qué cantidad un cuerpo reduce la fuerza atractiva entre dos puntos de carga opuesta : el agua tiene una constante dieléctrica aproximadamente igual a 80 veces la del aire, tomada como unidad ; algunos narcóticos tienen la constante dieléctrica entre 4 y 8, lo cual quiere decir que el agua, puesta en lugar del aire, reduce a 1/80 la fuerza de atracción entre dos puntos de distinta carga, mientras que el narcótico la reduce solamente 1/4-1/8.
Es, pues, evidente que si las fuerzas de atracción son mayores o menos reducidas (como con el narcótico) será más fácil la neutralización recíproca de las cargas. En efecto, los líquidos con constante dieléctrica baja, son los que menos ionizan los cuerpos disueltos, porque facilitan menos la separación de las cargas iónicas opuestas, y el agua con su constante dieléctrica alta es una excelente ionizadora de las soluciones ionizables.

CAPÍTULO III

Composición química de la sangre

a) Generalidades.

La sangre representa el medio fundamental de transporte de los materiales nutritivos eleborados en el tubo digestivo y reabsorbidos a nivel de las vellosidades intestinales, y del oxígeno débilmente fijado en la red vascular del pulmón a la hemoglobina de los hematíes. Los materiales alimenticios simplificados, azúcar, aminoácidos, grasas y sales, son distribuídos por la sangre y por lo tanto acumulados en los depósitos de reservas que posee el organismo o bien utilizados en los distintos tejidos para la reparación (asimilación) o el desarrollo de energía, en cuyo último caso son quemados en contacto del protoplasma viviente por la acción de los mecanismos complejos que describiremos en su lugar. Si por la vía digestiva, o por otra cualquiera, han sido introducidos en el organismo y llegado a la sangre algunas substancias incapaces de ser almacenadas como materiales de reserva, o de ser quemadas para fines energéticos, e inútiles para la reconstrucción del protoplasma vivo — substancias, por lo tanto, inútiles fisiológicamente — pueden ser fijadas por elementos celulares especiales de función protectora o desintoxicante. Si se trata de materiales de cierta complicación, podrán ser *fagocitados* por elementos celulares especializados, tales como las células del aparato retículo-endotelial, los leucocitos de la sangre y quizás las células de neuroglia y ciertas células epiteliales; también puede suceder que estas substancias sean eliminadas por las vías de los emunctorios naturales (riñón, vías biliares) o, en ciertos casos, acopladas con substancias fácilmente disponibles *(síntesis defensivas)* de manera que se constituyan compuestos inocuos y fácilmente eliminables a su vez por los emunctorios, e incluso puede ocurrir que sean atacadas por las fuerzas fermentativas y desintegradas en la circulación o en determinadas regiones del organismo.

Además llegan a la sangre los productos de la actividad de los tejidos: los productos regresivos de la vida celular, los materiales

incompletamente metabolizados o los términos finales de los procesos de oxidación (como el CO_2, la urea, etc.); todo esto llega a la sangre y tiende continuamente a modificar su composición: la sangre se encarga de la eliminación por las vías de los emunctorios (riñón, vías biliares, pulmón para el CO_2 y el agua) o del transporte a los lugares donde sufrirán la oxidación consiguiente o el acoplamiento con fines desintoxicantes.

En la sangre se vierten los productos de las glándulas de secreción interna u hormonas, así como llegan a ella los reguladores exógenos representados por las vitaminas.

La sangre es, pues, aunque no sea más que fugazmente, el receptáculo universal de todo lo que llega al organismo o que en el organismo se produce y debe ser eliminado, por lo cual el estudio bioquímico de la sangre representa un medio esencial para conocer lo que sucede en la intimidad de los tejidos y que es muy difícil de observar directamente en éstos.

A pesar de esta función de transporte, de receptáculo *transitorio*, de distribuidor y proveedor para todo el organismo, se caracteriza la sangre por una gran *constancia* en su composición química y estructura físico-química: aquí nos ocuparemos más particularmente de la parte química, mientras que en los capítulos sucesivos trataremos de las cuestiones concernienyes a la constitución físico-química de la sangre. Como la sangre y la linfa representan el medio en que deben vivir las células, y la vida celular va estrechamente unida al mantenimiento en el medio ambiente de condiciones químicas y físico-químicas bien determinadas, se concibe que los humores orgánicos circulantes, que constituyen el medio celular, deben tener una composición lo más constante posible y deben ser sustraídos, mediante mecanismos reguladores especiales, al peligro de variaciones demasiado acentuadas o demasiado bruscas de la composición normal. Los cambios entre la sangre y los tejidos, entre la sangre y el medio exterior por la interposición del tubo digestivo, la sustracción de los materiales eliminables por los emunctorios, forman un todo estrechamente relacionado, gracias al cual puede hablarse de un verdadero equilibrio, no estático sino *dinámico*, de la composición de la sangre. Unicamente en condiciones patológicas son posibles ciertas variaciones de composición más pronunciadas, porque ciertos mecanismos reguladores se han hecho insuficientes; pero las variaciones demasiado acentuadas, especialmente en lo que se refiere a la constancia físico-química, son incompatibles con la vida.

El cuerpo humano contiene cerca del 5,3 % del peso corpóreo de sangre (para la mujer parece que es un poco menos: 5,1 %).

La sangre es una suspensión de elementos morfológicos (células como los leucocitos y hematíes, o derivados celulares como las plaquetas que provienen probablemente de la fragmentación de las lobulaciones protoplasmáticas de los megacariocitos de la médula ósea) en un líquido que se llama *plasma;* es de color rojo opaco, pero se vuelve

transparente (sangre *lacada*) si los hematíes dejan difundir su pigmento (fenómeno de la *hemolisis)*. Tiene una densidad de 1,050 aproximadamente. Acerca de las plaquetas o trombocitos diremos algo al tratar de la coagulación de la sangre; recordemos que algunos, como MATHEWS, niega su existencia en la sangre intacta y viva y las consideran como cristales flúidos de las proteínas que precipitan del plasma cuando la sangre está alterada aunque sólo sea por ligerísimas intervenciones sobre los vasos o por la extracción.

b) LAS CÉLULAS DE LA SANGRE.

Los *leucocitos* son células semovientes, por lo tanto de protoplasma contráctil (movimientos *amiboides)*, que viven en estado de relativa independencia, como pequeños organismo autónomos en simbiosis con el macroorganismo, no ligados necesariamente ni siquiera con el medio hemático, ya que normalmente, y más todavía en condiciones patológicas, los vemos emigrar con facilidad de los vasos hacia los tejidos, así como los vemos entrar o reingresar desde los tejidos a la sangre. Estas características hacen a los leucocitos particularmente aptos para ejercitar la función fagocitaria con los materiales pulverulentos, detritus de células homólogas o heterólogas y bacterias: parece que el primer acto de la fagocitosis, la emisión de pseudópodos hacia el material que han de englobar, está relacionado con la disminución de la tensión superficial en determinados puntos de la zona límite entre el protoplasma y el medio ambiente; los pseudópodos se retraen cuando vuelve a crecer la tensión superficial en aquellos puntos. La teoría de los movimientos por pseudópodos ha sido desarrollada principalmente a propósito de las amibas, pero puede aplicarse también a los leucocitos: esta teoría relaciona la expansión o la retracción protoplasmática con la disminución o el aumento de la tensión superficial. Estas modificaciones de la tensión superficial pueden depender de modificaciones internas de la célula, como admite JENSEN para las amibas, en las cuales los fenómenos de desasimilación serían los que producirían el aumento de la tensión superficial por acumularse gran número de moléculas en determinados puntos del cuerpo celular, mientras que los fenómenos de asimilación, con agregaciones moleculares, procesos de síntesis y otros similares serían causa de una disminución de la tensión superficial. Pero también ciertos agentes externos a la célula pueden modificar directamente las condiciones de la superficie celular y por lo tanto variar su estado físico : así podemos suponer que en la flógosis, el estímulo quimiotáctico sobre los leucocitos se realiza porque ciertas substancias de origen bacteriano o ciertos productos de desintegración de los tejidos se adsorben en la superficie del leucocito de una manera desigual respecto a distintos puntos de dicha superficie y, por lo tanto, modifican de manera asimétrica la tensión superficial en el límite entre el protoplasma leucocitario y el plasma sanguíneo y linfático, de donde derivan las deformaciones y traslaciones. Puede

también citarse una teoría de HIRSCHFELD (1), según la cual las modificaciones de la tensión superficial están en relación con modificaciones de la carga eléctrica en la superficie de los fagocitos (amibas o leucocitos), debidas a los iones disociados del material fagocitable.

Los leucocitos son ricos en núcleoproteidos (en el núcleo) ; en efecto, cuando en el organismo se destruyen muchos leucocitos (leucemia) hay una liberación de grandes cantidades de bases púricas y un aumento del término de su metabolismo, el ácido úrico, en el plasma sanguíneo y en la orina. Los núcleos leucocitarios también son ricos en Ca. Los leucocitos son también ricos en Fe o por lo menos lo almacenan con facilidad : si se administran por vía gástrica preparados inorgánicos de Fe, se encuentran los leucocitos de los linfáticos intestinales cargados de granulaciones ferruginosas (que se ennegrecen por el tratamiento con sulfuro amónico).

Los leucocitos tienen en general una notable importancia para la elaboración y transporte de diversos materiales nutritivos ; en efecto, contienen fácilmente granulaciones de glucógeno, en proporción que sobrepasa la normal si en el plasma sanguíneo está aumentado el contenido normal de glucosa (como en la diabetes), quizá porque los leucocitos absorben glucosa y la polimerizan en forma de glucógeno, almacenándolo en esta forma. Para las grasas se ha sostenido también que los leucocitos pueden cargarse de ellas en las paredes del tubo digestivo, por una especie de proceso fagocitario, y llevarlas a la circulación. BERGEL (2) ha concedido especial importancia a los leucocitos como células influyentes en el metabolismo de las grasas, pues estarían dotados de lipasas activas, por lo cual acudirían siempre a los lugares donde existen materiales ricos en grasa o lipoides por desintegrar (infiltración linfocitaria del tubérculo). Investigaciones más recientes, y especialmente las amplias y cuidadosas de PENTIMALLI (3), han demostrado que el aparato linfocitario reacciona con extremada sensibilidad a la penetración en la circulación de proteínas heterólogas o derivados proteicos ; actualmente está comprobado que existe cierta relación entre la alimentación, el metabolismo proteico y los glóbulos blancos de la sangre. PENTIMALLI ha obtenido cuadros de leucocitosis intensa y alteraciones hiperplásicas acentuadísimas de los órganos hemo y linpofoyéticos durante el curso de la intoxicación proteica crónica (inyección de proteínas heterólogas por vía parenteral) tanto que le han inducido a pensar que la leucemia no es más que una enfermedad del metabolismo debida a la penetración en las vías circulatorias de derivados proteicos anormales o de proteínas heterólogas, no suficientemente desnaturalizadas en el tubo digestivo.

Pero la gran importancia de los glóbulos blancos de la sangre consiste también en su riqueza en varias enzimas : ya se ha hablado de las

(1) *Zeitschr. f. allg. Physiol.*, vol. IX.
(2) *Die Lymphocytose*, Berlín, 1921.
(3) Véase artículo resumen reciente en *Klin. Woch.*, 1924, n.° 46.

lipasas cuya existencia algunos consideran que radica, preferentemente en los linfocitos, pero los leucocitos y especialmente los polinucleares, producen también fermentos que son principalmente *enzimas proteolíticas* y oxidasas (oxidasas simples o verdaderas ; también peroxidasas; véase cap. VIII). La riqueza en proteasas y oxidasas de los polinucleares en comparación con los linfocitos es la base de algunos métodos de diagnóstico clínico, útiles para distinguir las distintas formas de leucemia. Así, desde hace ya muchos años MÜLLER y JOCHMANN han observado que la sangre leucémica depositada en gotas sobre placas de suero coagulado, formaba unas excavaciones, por digestión de las proteínas séricas, si se trataba de leucemia mieloide (presencia de mielocitos y polinucleares, de la serie granulosa, que contienen proteasas), pero no, si la sangre procedía de un caso de leucemia linfoide. También los métodos microquímicos para la investigación de las oxidasas que expondremos en el capítulo VIII, son de aplicación útil en las investigaciones anatomo-patológicas sobre ciertas alteraciones flogísticas del riñón, hígado, etc.: las oxidasas, demostrables, por ejemplo, por el método de la síntesis del indofenol, revelan en cierto modo y hasta un cierto punto, la presencia de polinucleares en los tejidos o en la sangre.

Los fermentos proteolíticos de los polinucleares explican la licuación del pus ; son, pues, la causa de la llamada *fusión purulenta.*

También proceden en gran parte de los glóbulos blancos, y quizás también de los hematíes, la amilasa y un fermento glucolítico que es la base de la *glucolisis hemática* descrita por LÉPINE y ya notada por CLAUDIO BERNARD (la sangre abandonada a sí misma se empobrece en azúcar y destruye también el azúcar añadido, provocando la aparición de ácido láctico). Se ha descrito también una *catalasa* (el pus descompone el agua oxigenada, con desprendimiento de O_2). Finalmente los leucocitos pueden tener importancia en la génesis de las substancias inmunitarias (complemento, ciertas bacteriolisinas termoestables, etc.). FIESSINGER (1) considera, no sin razón, a los leucocitos como una especie de glándulas endocrinas unicelulares.

Los *eritrocitos, glóbulos rojos* o *hematíes* poseen funciones completamente especializadas : son los vehículos del oxígeno desde los pulmones a los tejidos, y su constituyente *específico*, ya descrito, es la *hemoglobina* capaz de unirse al oxígeno en forma de una combinación lábil reversible. Son elementos de vida breve, calculándose que un hematíe vive, por término medio de 4 a 5 semanas. Al tratar de la membrana celular, ya hemos indicado algo acerca de la estructura físico-química de los hematíes, porque estas células, fáciles de obtener y de seguir en sus alteraciones para la expulsión del pigmento (hemolisis), han servido de cómodo material de estudio para muchas cuestiones de toxicología, farmacología, inmunidad y hasta para el desarrollo de la teoría de las membranas celulares. Además del transporte

(1) *Les ferments des leucocytes*, París, 1923.

de oxígeno, parece, según CONSTANTINO, que los hematíes tienen importancia también para el transporte de aminoácidos ; en efecto, este autor observó (1) que el aumento del N amínico en la sangre durante la adsorción de los aminoácidos tiene lugar a expensas de los glóbulos rojos más que del plasma. Quizá los glóbulos rojos adsorben en su superficie a los aminoácidos.

Los glóbulos rojos son ricos en substancia sólida y relativamente pobres en agua (sólo contienen el 60 % en peso de agua, en vez del 70-75 % de varios tejidos) ; unos $^4/_5$ de su peso en estado seco — o sea después de sustraerles el agua — corresponden a la hemoglobina (lo que equivale al 32,7 % del peso en estado fresco). Contienen además pequeñas cantidades de otras proteínas, lipoides y grasas (1,08 % del peso de substancia seca, en ácidos grasos ; 0,09 en anhídrido fosfórico unido a los lipoides) : el diverso contenido en lecitina quizá es causa de la mayor o menor sensibilidad de los hematíes de las distintas especies animales para ciertos venenos hemolíticos que la lecitina activa (veneno de las serpientes : *Naia tripudians* o Cobra) ; en cambio, la proporción de colesterina influye en la diversa sensibilidad de los glóbulos rojos respecto a las saponinas, que se fijan precisamente sobre la colesterina (2). Es dudosa la existencia de indicios de glucosa en el glóbulo rojo (v. la nota al pie de la pág. 361). Los hematíes tienen propiedades peroxidásicas (quizá es la misma hemoglobina la que desempeña el papel de peroxidasa) y contienen fermentos peptolíticos, y quizá también glucolíticos (véase leucocitos). Los hematíes son ricos en K y, por el contrario, contienen poquísimo Na, lo que les diferencia notablemente del medio (plasma) en que están en suspensión, muy rico en Na-iones, lo cual es prueba de la impermeabilidad *normal* de la membrana globular para las sales, impermeabilidad que hace a los hematíes muy aptos para demostrar las condiciones osmóticas de un líquido (véase capítulo precedente).

Los hematíes son verdaderos osmómetros muy pequeños y cómodos, pues reaccionan con modificaciones de volumen y pérdida de la hemoglobina a las variaciones de la presión osmótica del medio. Sin embargo, los hematíes de la sangre normal de los mamíferos no ceden su hemoglobina a las soluciones hipotónicas, si la presión osmótica de éstas no corresponde a la de soluciones de Na Cl con menos del 0,6 % de sal.

El estudio de la *resistencia osmótica de los hematíes* (comprobándola con soluciones progresivamente hipotónicas y determinando a qué concentración se inicia la hemolisis y a cuál es completa : llamadas también *resistencia mínima* y *resistencia máxima)* tiene importancia

(1) *Bioch. Zeitschr.*, vol. LI y LV.

(2) En realidad, la colesterina añadida al líquido donde el glóbulo está en suspensión, *inhibe* la hemolisis por la saponina, porque en cierto modo se apodera del veneno antes de que éste pueda fijarse en los hematíes. Por lo demás, se considera que la colesterina es un agente antihemolítico de amplia acción : inhibe la hemolisis por los jabones, por el veneno de cobra, etc., de donde se desprenden indicaciones terapéuticas en las anemias consideradas de origen hemolítico.

clínica (ya lo habíamos indicado en el cap. II), pero actualmente, después de lo que sabemos acerca de los antagonismos iónicos (cap. VI, *c*) no puede determinarse, como en los antiguos experimentos de HAMBURGER, con sencillas soluciones de NaCl, sino, como han demostrado el mismo HAMBURGER (1), BRINKMANN y DAMM (2), SIMMEL y EINSTEIN (3), con soluciones hipotónicas pero de contenido iónico salino *equilibrado;* tal es, por ejemplo, una solución original con 0,7 % de NaCl, 0,18 % de $NaHCO_3$, 0,02 % de $CaCl_2$ y 0,02 % de KCl, que se toma como punto de partida y se diluye convenientemente para obtener la hipotonicidad que se desea sin alterar el equilibrio iónico.

Efectivamente, si se mide la resistencia osmótica poniendo los hematíes en contacto con simples diluciones crecientes de una sola sal, por ejemplo NaCl, se encuentran valores menores que cuando se emplean soluciones hipotónicas que contienen las antagonistas normales del plasma, porque la alteración osmótica se añade a la del desequilibrio iónico-salino. La resistencia osmótica de los hematíes está reducida de una manera típica en las ictericias hemolíticas y aumentada en la esplenomegalia.

La impermeabilidad de las membranas globulares a los iones salinos no es absoluta, como han demostrado las experiencias de HAMBURGER, estudiadas por varios otros autores (KOEPPE, HASSELBACH, etc.) y vueltas a comprobar recientemente por FRIDERICIA (4) y por HAGGARD y HENDERSON (5). Si se hace pasar CO_2 por sangre desfibrinada, hay un cambio de iones entre el suero y los corpúsculos: disminuye el contenido en cloro del suero y se ha comprobado que pasa Cl' dentro de los hematíes, mientras que salen otros aniones y especialmente iones OH, por lo cual el suero se hace más alcalino (es, pues, como si el CO_2 formase ácido clorhídrico con el NaCl del suero, depositándolo en los corpúsculos, y en el suero se forman NaOH y, con el CO_2, carbonato o bicarbonato sódicos). La tensión parcial del CO_2 en la sangre, influye seguramente en la distribución de los cloruros entre el plasma y los glóbulos rojos (6).

Es posible que, igual que los aniones, los cationes puedan pasar también sin mucha dificultad de los corpúsculos al plasma, como ya supusieron HAMBURGER y BUBANOVIC (7) en 1910.

Los hematíes representan aproximadamente $^1/_3$ del volumen de la sangre total; su superficie total es, en el hombre, de 3500 m.² (número: 5 000 000 en el hombre, 4 500 000 en la mujer). Tienen un peso específico mayor que el plasma y que los leucocitos, por lo cual se sedimentan, con distinta velocidad según las especies (rápidamente los

(1) *Bioch. Zeitschr.*, vol. CXXIX, 1922.
(2) *Id.*, vol. CVIII, 1920.
(3) *Klin. Woch.*, 1923, n.° 35.
(4) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XLII, n.° 2, 1920.
(5) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XLV, n.° 1.
(6) v. SLYKE y CULLEN, *Journ. of biol. Chem.*, vol. XXX; FRIDERICIA, loc. citato.
(7) *Arch. intern. de Phys.*, vol. X, 1910.

hematíes de caballo y lentamente los de buey; los del hombre representan un término medio). La velocidad de sedimentación varía mucho según los estados fisiológicos o patológicos, pero como las variaciones no dependen de cambios globulares sino de modificaciones del plasma, trataremos de ellas al ocuparnos del plasma.

Aunque privados de núcleo (en la sangre circulante de los mamíferos adultos) y destinados a una función especialísima de transporte de O_2, los hematíes tienen, mientras son jóvenes, una vida propia, un metabolismo y *consumen* O_2. Ya en 1910 MORAWITZ y ITAMI (1) intentaron aprovechar este fenómeno para fines clínicos. Puede ponerse de manifiesto colocando sangre saturada de O_2 en un recipiente herméticamente cerrado y manteniéndola durante 5 horas a 37°: si existen muchos hematíes jóvenes puede desaparecer hasta $^2/_3$ del oxígeno, consumido por su respiración (los leucocitos representan sólo un consumo mínimo, cerca del 4 %). Más recientemente DENEKE y RÜBERG (2) encontraron que en el embarazo la sangre consumía bastante O_2 por la presencia de eritrocitos jóvenes en gran cantidad. También se ha estudiado el proceso respiratorio propio de la sangre en las distintas formas de anemia con resultados aproximadamente paralelos a los que proporciona la investigación histológica de los hematíes jóvenes; es probable que la respiración de los hematíes nucleados sea particularmente intensa.

c) EL PLASMA SANGUÍNEO.

Si se recoge sangre en un recipiente, sin observar ninguna precaución especial, aquélla, que al principio era líquida, se transforma en una masa sólida y coagulada, porque un cuerpo proteico del plasma sanguíneo, el *fibrinógeno*, primitivamente disuelto, pasa al estado de gel, de estructura filamentosa, formando lo que se llama *fibrina*. Dejando en reposo la masa coagulada, constituída por grandes mallas de fibrina que aprisionan a los glóbulos rojos y están embebidas de líquido, el líquido residual, constituído por el plasma privado del fibrinógeno, se separa poco a poco del coágulo, es como exprimido por éste que disminuye de volumen y se despega de las paredes del recipiente hasta producir un coágulo retraído, elástico, rojo porque contiene aprisionados a los hematíes, que se destaca perfectamente de un líquido amarillo o amarillo rojizo, que es el suero (peso específico 1,030). El suero es, pues, el plasma menos el fibrinógeno; es lo que queda del plasma cuando el fibrinógeno se ha transformado en fibrina. Para conservar el plasma integral y no solamente el suero es necesario impedir el proceso de la coagulación, salando el líquido con sulfato de sodio o de magnesio o con cloruro sódico a gran concentración, o por medio de sales precipitantes del calcio, como oxalatos alcalinos, citratos alca-

(1) *Deutsch. Arch. f. Klin. Med.*, vol. C.
(2) *Klin. Woch.*, 1922, n.° 19.

linos ; también el fluoruro de sodio, o la inyección al animal (antes de la sangría) de cierta cantidad de peptona o de hirudina (extracto de cabezas de sanguijuelas) que impiden durante un cierto tiempo la coagulación de la sangre. Una vez recogida la sangre incoagulable, hay tiempo de centrifugarla o dejarla sedimentar, y así tendremos los glóbulos formando un sedimento y el plasma (esta vez completo, porque el fibrinógeno no ha sido precipitado en estado de fibrina) por encima de éstos.

También se puede obtener el suero a partir del plasma ; para esto basta, una vez obtenido el plasma de la sangre incoagulable, provocar la coagulación del fibrinógeno. Finalmente, se puede obtener el suero sin necesidad de esperar la coagulación expontánea y la retracción del coágulo, si en el momento de extraer la sangre se agita con una varilla o si se sacude fuertemente en un recipiente que contenga bolitas de vidrio ; el fibrinógeno se transforma inmediatamente en fibrina, que se adhiere en forma de copos rojizos a la varilla o a las bolas : la sangre queda *desfibrinada* y, por haber sido privada de la fibrina, ya no coagula, sino que cuando se deja en reposo o se centrifuga, separa una capa de *suero* que sobrenada por encima del sedimento globular.

Podemos, pues, trazar el siguiente esquema :

Glóbulos..... } coágulo (rojo)
Plasma { fibrinógeno —> fibrina..... }
{ otros constituyentes del plasma = suero.

Según como tratemos la sangre después de la extracción tendremos:

1.° Por batimiento (desfibrinación mecánica): fibrina en copos adheridos al instrumento con que se ha batido y sangre desfibrinada, fácilmente separable en sedimento globular y suero.

2.° Por simple depósito : coágulo de fibrina, que aprisiona los glóbulos y suero.

3.° Por tratamiento que haga incoagulable a la sangre : plasma y sedimento globular.

Si la coagulación espontánea es lenta, pero sobre todo si los glóbulos rojos precipitan con mayor rapidez que de costumbre, de manera que lleguen a una sedimentación relativa antes de que sean aprisionados en las mallas del retículo de fibrina, en la parte alta del coágulo sólo o casi únicamente quedan englobados los leucocitos, que por tener un peso específico menor se sedimentan más lentamente: entonces se forma en la parte superior del coágulo una capa blanquecina de leucocitos, llamada *capa flogística* o *capa láctea*, característica, según antiguas observaciones, de las enfermedades febriles o de los períodos avanzados del embarazo

Acerca de este fenómeno, así como acerca del fenómeno de la coagulación, insistiremos cuando hayamos expuesto las nociones químicas fundamentales sobre el plasma

El plasma contiene *proteínas*, algunos *otros cuerpos nitrogenados* (fracción del nitrógeno *residual* o *nitrógeno no proteico)* cuerpos orgánicos no *nitrogenados* (grasas, hidratos de carbono) y *sales;* además contiene *fermentos* y substancias del tipo de los *antígenos* y *anticuerpos* El N de la sangre está repartido entre las proteínas (N proteico o coagulable) y otros cuerpos (N residual); de la misma manera se considera un C unido a las proteínas y un C residual (de la glucosa y otros cuerpos orgánicos numerosos y aun no bien conocidos).

1.° *Proteínas del plasma.* — Se deben a Baglioni (1) y a Bottazzi (2) las primeras investigaciones sistemáticas comparativas acerca de las proteínas contenidas en los líquidos circulantes (líquidos de cavidades, sangre) de diversos animales ; más recientemente Delaunay (3) y Myers (4) se han ocupado en particular de los líquidos de cavidades y de la sangre de los invertebrados. Resulta de estas investigaciones que dichos líquidos contienen siempre proteínas, cuya proporción crece en general a medida que nos elevamos en la escala zoológica. La única excepción, según Bottazzi, consiste en el elevado contenido proteico de la sangre de algunos artrópodos y de los cefalópodos, superior al contenido proteico de la sangre de los mamíferos; la causa de esta excepción parece residir en el hecho de que en la sangre de los cefalópodos y artrópodos está disuelta (y no unida a corpúsculos especiales, como en los vertebrados) la substancia proteica de función respiratoria propia de este grupo bastante complejo, de animales, en los cuales la función respiratoria alcanza una intensidad particular y exige un vehículo especial del O_2, proporcionando por un cromoproteido (hemocianina : véase Parte Primera).

Quagliariello, que ha reanudado recientemente el examen de esta cuestión (5) y ha encontrado confirmado en sus líneas generales cuanto se acaba de decir, divide a los animales en dos categorías, según el contenido proteico de sus líquidos orgánicos: 1.ª, los que contienen en estos líquidos menos de 1 % de proteínas (todos los invertebrados excepto los cefalópodos y algunos artrópodos, que son precisamente los crustáceos decápodos), y 2.ª, aquellos cuyo contenido proteico es superior al 1 % (los dos grupos dichos de invertebrados y todos los vertebrados). Bottazzi y Quagliariello suponen que la mayor riqueza en coloides, tales como las proteínas de la sangre, está relacionada con la perfección, siempre creciente en la escala zoológica, del aparato circulatorio.

Esta ley del aumento progresivo de las proteínas en la sangre de los animales en relación con su posición en la escala zoológica, contrasta con el comportamiento del N no proteico o N residual, que expresa el contenido en substancias nitrogenadas no coloidades, estudiado recientemente en varios animales desde los celentéreos a los

(1) *Hofmeister's Beitr.*, vol. IX, 50, 1907.
(2) *Rend. R. Acc. dei Lincei*, vol. XVII, S. 5.ª, 2.ª sem. 1908.
(3) *Compt. rend. Soc. d. Biol.*, vol. LXXIV, 1913.
(4) *Journ. biol. Chem.*, vol. XLI, 1920.
(5) *Rend. R. Acc. del Lincet*, vol. XXIX, S. 5.ª, 2.ª sem. 1920.

mamíferos, por QUAGLIARIELLO (1): todos los animales poseen en los líquidos de sus cavidades o en su sangre, substancias nitrogenadas no proteicas que, según MYERS, siempre son esencialmente las mismas (aminoácidos, ácido úrico, creatina, urea, NH_3) y cuyo contenido total varía de unos animales a otros pero mucho menos que el de las proteínas, si se exceptúan algunos peces (selacios) cuya sangre y tejidos son especialmente ricos en urea. Mientras que para las proteínas se encuentran diferencias entre los distintos tipos de animales en la proporción de 1 a 1700, para el nitrógeno residual las variaciones sólo son de 1 a 30 si no se tienen en cuenta los reptiles y las aves que presentan valores más altos, o de 1 a 100 si se consideran todas las clases zoológicas. QUAGLIARIELLO aduce este hecho como prueba de que la sangre sirve principalmente, en todos los animales, para el transporte hacia los tejidos o desde los tejidos de materiales anabólicos o catabólicos (aminoácidos, urea, etc.). El N no proteico corresponde, pues, a la función fundamental y primitiva de la sangre, mientras que el contenido proteico se debería en realidad a funciones sucesivamente adquiridas por la sangre, con fines que podríamos llamar colaterales, subsidiarios o secundarios.

En el hombre y en los mamíferos existe en el plasma un 6-8-10 % de proteínas: son éstas, como ya hemos dicho en la página 141: α) la *seroglobulina*, dividida clásicamente en tres fracciones, de las cuales la más inestable (con punto de coagulación térmica más bajo — unos 56° — y precipitable también por la solución de sulfato de amonio a ¼ de saturación) es el *fibrinógeno*, las otras son la *euglobulina* y la *pseudoglobulina*; β) la *seroalbúmina*.

En el suero se encuentran además indicios de un núcleoproteido, que quizás falta en el plasma y procede de los leucocitos alterados por el proceso de la coagulación. También se encuentra una pequeña cantidad de un glucoproteído (llamado *seromucoide*).

Generalmente la relación albúmina-globulina es 1,15 : 1; por lo tanto predomina ligeramente la albúmina. Se dice que en 1000 p. de plasma humano hay 72,6 de proteína, de las cuales 4,2 son de fibrinógeno, 28,3 de globulinas y 40,1 de albúmina; en el perro cada 1000 p. de plasma contienen 60,3 de proteínas, de los cuales 6 de fibrinógeno, 22,6 de globulinas y 31,7 de albúmina, y en el caballo, 80,4 de proteínas, de los cuales 4,5 de fibrinógeno, 47,9 de globulinas, 28 de albúmina. Las globulinas aumentan, o sea que la relación $\frac{\text{globulinas}}{\text{albúmina}}$ se desplaza con ventaja para las globulinas, en inanición, en las enfermedades infecciosas, en los procesos de inmunización y, en general, siempre que aumentan los fenómenos de desintegración celular: el aumento de las globulinas está generalmente en relación con el aumento de la llamada *labilidad coloidal* del plasma (o del suero) que puede medirse

(1) Loc. citato.

por varias reacciones biológicas (cap. VI *e*). Las globulinas y especialmente el fibrinógeno son los más *hidrófobos* y los más fácilmente floculables de todos los coloides plasmáticos En ciertas condiciones patológicas, en vez de suponer el aumento de las globulinas, se tiende más a admitir una disminución de las albúminas, más *hidrófilas*, para explicar ciertas modificaciones plasmáticas que deberían ser características de algunos estados morbosos. Así KAHN (1) admite una disminución de las albúminas, o sea de la porción más hidrófila, en el suero de los portadores de neoplasias malignas: ciertas serorrecciones incluyendo la de la menor actividad antihemolítica respecto al oleato sódico (véase también pág. 384), dependerían de esta modificación de la relación $\frac{\text{globulinas}}{\text{albúmina}}$; en las neoplasias existiría una tendencia a extraer y fijar la porción más hidrófila de las proteínas plasmáticas.

Las proteínas del plasma tienen una composición extremadamente constante: ABDERHALDEN ha visto que se pueden dar a los animales las más variadas proteínas como alimento, sin que se modifique en lo más mínimo la composición de las proteínas del plasma.

Durante mucho tiempo se ha admitido que las proteínas del plasma representaban una especie de material nutritivo para los tejidos; formadas de una manera, por decirlo así, inmediata de las proteínas de la alimentación, servirán como de *pabulum* universal. Pero no parece que en realidad sea así: el origen de estas proteínas se encuentra quizá en los tejidos y representan probablemente un producto de la disgregación de la células corpóreas, con dispersión creciente desde el fibrinógeno a la albúmina; se admitió en otro tiempo que el fibrinógeno tenía su origen en el hígado; otros han creído que procedía de los leucocitos, mientras que recientemente KISCH (2) aduce argumentos en favor de su formación en el espacio retículo-endotelial.

Las investigaciones de QUAGLIARIELLO (3) demuestran de todos modos de la manera más concluyente que las proteínas séricas no tienen función anabólica, no pueden servir de *pabulum* universal: en efecto, este autor comprueba que si se inyecta en las venas de los perros proteína del suero del mismo animal, ésta es metabolizada lentísimamente, iniciándose apenas la destrucción pasadas 24 horas Parece que las proteínas del suero son insuficientes para mantener el metabolismo nitrogenado; son, según las ideas sostenidas por BOTTAZZI, unas proteínas muy diferenciadas incapaces de subvenir a las necesidades de N de los tejidos, y están, pues, muy lejos de representar el *pabulum* nitrogenado de los tejidos. Añadamos que, según investigaciones concordantes de varios autores, que han tomado como punto de partida los trabajos de ABDERHALDEN acerca de los fermentos defensivos, y según algunos datos de este mismo fisiólogo, las proteínas séricas

(1) Ultimo trabajo en: *Klin. Woch.*, 1924, n.° 21.
(2) *Klin. Woch.*, 1923, n.° 31.
(3) *Arch. di Fisiol.*, vol. X, 1912.

son extremadamente resistentes a todos los fermentos proteolíticos. Es discutible que en el suero se encuentren normalmente fermentos proteolíticos y quizá existen diferencias desde este punto de vista entre los sueros de diferentes especies animales. STEPHAN (1), por ejemplo, los admite en los sueros humanos, más o menos enmascarados por substancias antiproteolíticas, pero demostrables (especialmente en ciertos sueros) con arficios apropiados (agitación con cloroformo) que alteran la constitución físico-química del suero, que representaría la protección normal contra aquellos fermentos en el organismo viviente y sano. También SCHIERGE (2) recomienda recientemente un método para liberar o descubrir proteasas activas en ciertos sueros humanos (pneumónicos). De todos modos, el mismo STEPHAN, que tanta importancia atribuye a las proteasas séricas normales y hasta las considera idénticas al fermento coagulante de la sangre (según él de origen esplénico), reconoce que la estructura coloidal especial del suero es el medio normal de inactivación de estos fermentos (que el autor reconoce por sus efectos sobre proteínas extrañas), y que de esta estructura son responsables las proteínas de una manera peculiar. Por medio de investigaciones polarimétricas. RONDONI (3) ha reemprendido recientemente el estudio de la «autoproteolisis sérica»: es difícil y rara la demostración de fenómenos ciertos de proteolisis en el suero a expensas de las seroproteínas propias, por lo cual todos los datos relativos a los pretendidos fenómenos de autodigestión del suero necesitan sufrir una revisión.

Las seroproteínas tienen pues, en gran parte, funciones mecánicas y protectoras: *mecánicas*, ya que sirven para mantener una cierta *viscosidad* necesaria para el equilibrio hemodinámico (la viscosidad, con la importancia que tiene en el determinismo de la resistencia periférica, posee un gran valor para el mantenimieno de la presión sanguínea); y *protectoras* porque, siendo difícilmente atacables por los fermentos, moderan los fenómenos fermentativos (auto y heterolíticos), opónense, pues, al desarrollo de procesos desintegrativos excesivos y peligrosos (4), adsorben y fijan varias substancias haciendo, por ejemplo, de vehículo a los anticuerpos, o bien se agrupan por sí mismas y adoptan las formas específicamente más convenientes para poder obrar como substancias antagonistas.

La estructura compleja de las proteínas séricas y sus recíprocas relaciones han sido analizadas recientemente mediante reacciones inmunitarias (experimento anafiláctico) por DALE y HARTLEY (5), por DOERR y BERGER (6) y por BERGER (7). Estas investigaciones demuestran que en muchas intervenciones sobre el organismo, especialmente

(1) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXIV, fasc. 5.° y 6.°
(2) *Z. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXXII, fasc. 1.° y 4.°, 1923.
(3) *Sperimentale*, 1922.
(4) SACHS, *Kolloidzeitschr.*, 1919, vol. XXIV, n.° 4.
(5) *Bioch. Journ.*, vol. X, 1916.
(6) *Zeitschr. f. Hyg.*, volúmenes XCIII-XCVI, 1922-1923; *Biochem. Zeitschr.*, vol. CXXXI.
(7) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXVIII, 1922.

después de la introducción de antígenos (proteínas heterólogas) hay un aumento de las proteínas séricas *(hiperproteinemia)*, con una modificación cualitativa regular y prolongada en el sentido de que a un primer período de hiperglobulinemia (aumento de las globulinas) relativa y absoluta, sigue al cabo de 1-3 meses un período de hiperalbuminemia absoluta y relativa, es decir, de aumento de las seroalbúminas: parecería, pues, que el contenido proteico del plasma se modificase en los procesos inmunitarios y hubiese un aumento sucesivo de las diversas fracciones proteicas, pasando de las menos estables a las más estables y dispersas (del fibrinógeno a las globulinas y de éstas a las albúminas) igual que sucede, según MORAWITZ, en la reparación de las proteínas séricas después de la sangría. Estos trabajos demuestran también que las distintas fracciones proteicas tienen una especificidad bioquímica propia, son diferenciables en el experimento anafiláctico; son, pues, como antígenos diversos y cada uno de ellos tiene una actividad antigénica muy distinta de los demás. Así el cobayo, preparado con una fracción (por ejemplo la albumínica) del suero de caballo, reacciona preferentemente a la reinyección de ésta y poco o nada a la reinyección de globulinas; de las fracciones proteicas del suero, la albúmina es la que tiene el poder antigénico menor, es decir que es la que produce más lentamente los anticuerpos en el organismo. Según DOERR y BERGER, con el experimento anafiláctico se pueden diferenciar también en el suero de caballo varias fracciones albumínicas con clara especificidad inmunitaria, de la misma manera que se diferencian bien las pseudoglobulinas y las euglobulinas; respecto a su actividad biológica (aptitud antigénica) podría establecerse esta escala descendente: euglobulina, pseudoglobulina y albúmina, que correspondería a un aumento de dispersión y que permite considerar como biológicamente más activas las fracciones proteicas dotadas de menor dispersión y mayor inestabilidad (globulinas). En el líquido orgánico más estudiado, el plasma sanguíneo, tenemos, pues, una verdadera pluralidad de antígenos (también en el plasma tenemos como antígeno diferenciado, además de los del suero, el fibrinógeno: ASCOLI) los cuales varían independientemente en los distintos individuos de una misma especie o en el mismo individuo según las condiciones del organismo. Según BERGER, estas modificaciones de las distintas fracciones antigénicas del plasma pueden revelar estados funcionales diversos de las células del organismo que fabrican las proteínas del plasma y permiten, en cierto modo, observar los procesos celulares íntimos en los distintos fenómenos fisiológicos y patológicos.

Estas modernas investigaciones ponen también en evidencia los llamados fenómenos de competencia entre los antígenos del plasma, que quizá pueden hacerse extensivos a todos los demás antígenos: cuando, por ejemplo, se sensibiliza al cobayo con antígenos globulínico y albumínico, según la proporción cuantitativa que de ellos se emplee puede suceder que el antígeno globulínico predomine y enmascare al albumínico, menos activo y que al practicar la prueba ana-

filáctica en un cierto período, tan sólo se obtenga reacción positiva con las globulinas.

El valor de estas investigaciones rebasa el de una simple profundización de ciertos detalles inmunitarios, ya que contribuyen mucho al conocimiento de las proteínas plasmáticas y proporcionan elementos, no decisivos aún, para la ya citada cuestión de si las distintas fracciones proteicas del plasma se diferencian estructuralmente (concepción químico-estructural) o sólo físicamente por un diverso estado coloidal (concepcion coloidal); es decir, en resumen si existen numerosas individualidades químicas verdaderas y propias o bien sólo estados coloidales distintos (de los menos dispersos las globulinas, a los más dispersos, como las albúminas) de una idéntica proteína como en la concepción ya citada de HERZFELD y KLINGER (Cap VII, *d*, Parte Primera). DOERR y sus colaboradores se inclinan por la concepción química y creen que las diferencias de especificidad entre los distintos albuminoides de la sangre, estas discordancias para las cuales, en los límites de la especificidad zoológica y subordinadas a ésta, existe una clara *especificidad de fracciones* están ligadas a diferencias que no son puramente coloidales sino verdaderamente constitutivas, y por lo tanto químicas en el verdadero sentido de esta palabra. Las investigaciones precedentes de OBERSTEINER y PICK, de LANDSTEINER (página 111), etc., han demostrado que modificaciones químicas relativamente pequeñas de la molécula proteica, determinan la aparición de nuevas formas de especificidad constitutiva. Puede suceder también que las diferencias químicas que determinan la especificidad funcional de las proteínas del plasma, sean relativamente pequeñas, pero lo suficiente importantes para ser demostradas por la exquisita delicadeza del proceso de inmunidad.

Circunscribiéndonos al campo puramente clínico diremos que también se hallan en relación con el contenido proteico, ciertas modificaciones serológicas, como la observada por KAHN y POTTHOFF (1), quienes han encontrado que los sueros de los portadores de tumores malignos inhiben la hemolisis por los jabones (oleato sódico) en menor grado que los sueros normales. Este fenómeno depende quizá de una disminución del contenido proteico del suero, la cual correspondería a un estado hidrémico, que en los sujetos caquetizados no tendría nada de particular. DIETRICH (2) habría encontrado que los sueros de estos individuos también presentan la misma disminución de la capacidad inhibidora respecto a otros agentes hemolíticos como las sales biliares. En realidad las proteínas del suero (o quizá mejor la albúmina) son las que obran como agentes antihemolíticos respecto a los jabones y a las sales biliares. En los cancerosos, además de una disminución de las proteínas en conjunto, podría haber una reducción relativa de las

(1) *Klin. Woch.*, 1922, n.° 8 y 34 ; *Zeischr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXIX, fasc. 3.° y 4.°
(2) *Klin. Woch.*, 1922, n.° 48.

seroalbúminas, con un relativo aumento, por lo tanto, de las globulinas, tal como sucede siempre que en el organismo se hacen más intensos los fenómenos destructivos a cargo de las células.

R. L. MAYER (1) ha estudiado recientemente el punto de coagulación del suero relacionándolo con su riqueza en proteínas, en agua, en leectrólitos y en no electrólitos: por término medio el suero coagula a 73°,5-75°,5; los sueros que dan valores refractométricos bajos (menos ricos en albuminoides) coagulan a temperatura más alta, de acuerdo con la ley que de la dilución de una solución proteica provoca una inhibición de la coagulación por calentamiento. ROSENOW encontró también que en los casos de hidremia (hidropesia, etc.) el suero puede necesitar temperaturas de 91°-98° para su coagulación.

La proporción de proteínas del plasma o del suero se determina frecuentemente con el método refractométrico, obteniéndose un descenso del índice de refracción del líquido cuando en él disminuye el contenido proteico; actualmente son muy numerosas las investigaciones refractométricas hechas con fines clínicos. En general, en todos los estados de hidremia (nefritis, caquexia, etc.) desciende la riqueza en proteínas. WIDAL considera el descenso del índice refractométrico del suero como sintomático de su *crisis hemoclásica*. Probablemente el contenido proteico del plasma o del suero varía en relación con las modificaciones del recambio de agua y de substancias sólidas entre la sangre y los tejidos, pero no podemos extendernos aquí sobre este asunto, que por ahora no ha proporcionado datos verdaderamente importantes para la clínica.

Queremos hacer notar también que el contenido proteico excesivamente elevado del plasma o del suero es a veces causa de dificultades analíticas para la determinación cuantitativa exacta de otras substancias; así BENEDICT (2) encuentra que una parte importante del ácido úrico de la sangre está unida a las proteínas e indica un método para la dosificación completa de aquél; de la misma manera, y más recientemente, HARPUDER y MOND (3) y PINCUSSEN (4) han encontrado que el precipitado de proteínas obtenido de un suero (al desalbuminarlo) arrastra consigo parte del ácido úrico y puede falsear las determinaciones de esta substancia.

En ciertos casos patológicos deben encontrarse en el plasma o en el suero proteínas anormales y sus derivados: así, si es cierta la teoría infiltrativa y si la substancia amiloide es, como afirman algunos investigadores modernos, una especie de derivado proteico anormal que precipita de la sangre en los tejidos casi en estado cristalino, dicha substancia debería encontrarse en la sangre. Cierto es que se ha encontrado en el suero el ácido condroitinsulfúrico, que es quizá un

(1) *Klin. Woch.*, 1922, n.° 34.
(2) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XX, pág. 629.
(3) *Zeitschr. f. d. ges. esp. Med.*, vol. XXVII, fasc. 1.
(4) *Klin. Woch.*, 1922, n.° 29.

componente de la substancia amiloide, aun cuando EPPINGER (1) afirma recientemente que no es así; de todos modos en casos de amilosis difusa y también de *nefrosis lipoidea* (MUNK) sin amilosis, DRESEL ha encontrado el ácido condroitinsulfúrico en el suero (2) y cree que es normalmente eliminado por la orina, pero que en los casos de amilosis y de lesiones renales es retenido en la sangre y depositado en varios órganos.

Finalmente, en el plasma puede encontrarse hemoglobina, normalmente encerrada en los hematíes, o sus derivados tales como la metahemoglobina y la sulfohemoglobina (H_2S — Hb), y también productos de su metabolismo como los pigmentos biliares. Se presentan entonces los estados patológicos de:

hemoglobinemia o presencia de hemoglobina disuelta en el plasma, señal de hemolisis intensa;

parahemoglobinemia o presencia en el plasma, en el plasma y los hematíes, o en los hematíes solamente, de derivados hemoglobínicos anormales, que normalmente no se encuentran (o sólo en indicios) ni siquiera en los glóbulos (en los que se halla solamente Hb o O_2Hb): H_2S — Hb, Meta-Hb, hematoporfirina, etc.;

bilirrubinemia, urobilinemia, etc., o presencia de pigmentos biliares o sus derivados (ictericia).

Bastarán breves palabras a título de comentario: cuando se destruyen hematíes en cantidad mayor de la normal y se libera mucho pigmento hemático, éste es transformado en pigmento biliar por las células hepáticas o por otros elementos celulares, que, según las ideas de la escuela de ASCHOFF, son los elementos retículo-endoteliales (teoría de la ictericia retículo-endotelial), y en tal forma pasa a a las vías biliares o, si existe en exceso, es reabsorbido (ictericia pleiocrómica); pero si el pigmento hemático es liberado en un gran exceso o no puede ser eliminado por los órganos destinados a su metabolismo normal (sean éstos las células hepáticas solas o junto con las células retículo-endoteliales), resulta entonces una hemoglobinemia, en el sentido de que queda hemoglobina disuelta en el plasma, con todas sus consecuencias (hemoglobinuria).

Hay estados patológicos en los cuales en la sangre (y en este caso no sólo en el plasma sino quizá en los mismos glóbulos) no se encuentra hemoglobina verdadera ni sus derivados *normales:* los pigmentos biliares, la urobilina (de que hablaremos en seguida), etc., sino otros derivados anormales; éstos pueden ser: la hematoporfirina, importante agente fotosensibilizador, hasta tal punto que la hematoporferinemia (con hematoporfirinuria) va frecuentemente acompañada de síntomas de sensibilidad patológica de la piel a la luz *(hidroa aestivalis* de los dermatólogos), la metahemoglobina impropia para la función respiratoria, y también combinaciones de la hemoglobina con H_2S,

(1) *Bioch. Zeitschr.*, vol. CXXVII, 1922.
(2) *Klin. Woch.*, 1923, n.° 52.

HCN, etc. Aun cuando sean poco conocidos, es necesario que citemos ciertos cuadros morbosos caracterizados por la presencia en la sangre de estos derivados anormales de la Hb, llamados *parahemoglobinemias.*

STOKWIS y TALMA describieron en 1902 algunos casos de la llamada cianosis autotóxica enterógena: individuos con cianosis no justificada por lesiones del aparato circulatorio o respiratorio, con graves lesiones intestinales y presencia de metahemoglobina en los glóbulos rojos (demostrable al espectroscopio): parece que se trata de casos con alteraciones graves de la flora intestinal, formación abundante de nitritos en el intestino y reabsorción de los mismos, que conducen (como en el envenenamiento exógeno por los nitritos) a la metahemoglobinemia.

HIJMANS VAN DER BERGH ha descrito casos de cianosis crónica pura sin lesiones circulatorias y respiratorias, en los cuales el examen espectroscópico de la sangre revela la presencia de una raya en el rojo que, por su posición y varios caracteres, debe considerarse propia de la sulfohemoglobina (H_2S — Hb); se encuentran pues casos de sulfohemoglobinemia y sulfohemia (1), probablemente éstos también de origen enterógeno, que acompañan a formas graves de estreñimiento.

Hay casos también, tanto de metahemoglobinemia como de sulfohemoglobinemia, en los cuales el derivado hemoglobínico anormal no permanece unido a los glóbulos intactos, sino que se encuentra en el plasma consecutivamente a un proceso de hemolisis: se han descrito estas formas sobre todo en casos de infección por gérmenes anaerobios (bac. de FRAENKEL; algunos cocos anaerobios). SCHOTTMÜLLER, BINGOLD (2), HIJMANS VAN DER BERGH y ENGELKES (3) han estudiado particularmente estas formas hemolíticas con notable alteración de la hemoglobina y formación de derivados característicos. HIJMANS VAN DER BERGH aplica el nombre genérico de *parahemoglobinemias* a dichos estados morbosos con transformación de la hemoglobina en metahemoglobina o sulfohemoglobina y los clasifica de acuerdo con el siguiente cuadro.

Parahemoglobinemias autotóxicas	intraglobulares (sin hemolisis)	metahemoglobinemia (en casos con enteritis grave, quizá con presencia de nitritos en la sangre).
		sulfohemoglobinemia (en casos de estreñimiento pertinaz).
	hemolíticas...	metahemoglobinemia: ciertas formas de infección anaerobia; quizá en ciertas formas de eclampsia puerperal.
		sulfohemoglobinemia: también en formas sépticas por anaerobios.

(1) *Deutsch. Arch. f. klin. Med.*, vol. LXXXIII, 1905.
(2) Para bibliografía, véase: BINGOLD, *Virchow's Arch.*, vol. CCXXXIV, páginas 332, 1921.
(3) *Klin. Woch.*, 1922, n.° 39.

Se encuentran también las antiguas formas de hidrotionemia de Betz, Senator, etc., que son también envenenamientos endógenos por el H_2S, formándose frecuentemente este gas en las vías urinarias por procesos de putrefacción graves a expensas de la orina. Existen además las parahemoglobinemias exógenas o heterotóxicas, es decir todas aquellas formas de metahemoglobinemia o sulfohemoglobinemia que son debidas a venenos exógenos que alteran el pigmento hemático transformándolo en metahemoglobina, como lo hacen los cloratos, nitritos, etc., o en sulfohemoglobina, como el H_2S (el gas de las alcantarillas): pero para estos envenenamientos exógenos remitimos a los tratados de Toxicología.

En cuanto a la bilirrubinemia (ictericia), debemos decir que actualmente parece admitida una *bilirrubinemia fisiológica*, sostenida ya por Gilbert, pero según las observaciones de Sabatini, Conti, Galassi, Greppi, De Michele y Barlocco no podría considerarse como absolutamente constante en el hombre (1), ya que estos investigadores no la han encontrado, a pesar de operar con los métodos más sensibles, en la tuberculosis y otras enfermedades y en algunos individuos sanos. Existen también diferencias según la especie; parece que el perro no tiene normalmente bilirrubina en la sangre, mientras que existe una acentuada bilirrubinemia fisiológica en el caballo (2).

La bilirrubina es el producto normal de la transformación de la parte cromática y no ferruginosa de la molécula de hemoglobina liberada por la continua destrucción de hematíes en los órganos hemocateréticos, de los cuales el principal es el bazo: con la porción cromática de este material hemoglobínico, la célula hepática solamente según unos, o las células retículo-endoteliales según otros (3), fabrican la bilirrubina que encuentra en la bilis en vía de excreción (4). Pero

(1) Véase: Zoia, *Le itterizie*, en: *Attual. Scient.*, Capelli, Bolonia, 1923.
(2) Bock, *Klin. Woch.*, 1924, n.° 13 y 14.
(3) Escuela de Aschoff: véase trabajos de Lepehne, en: *Deutsch. Archiv f. klin. Med.*, vol. CXXXII, CXXXV, CXXXVI.
(4) Además de no conocerse con exactitud el *punto donde tiene lugar* la transformación de la hemoglobina en bilirrubina (asunto sobre el cual no podemos extendernos aquí) es también muy inseguro el *mecanismo* de la misma: véanse las nociones más puramente químicas expuestas en la I parte y los resúmenes recientemente citados de Zoia y Bock. No es imposible que las células retículo-endoteliales separen el Fe del cromógeno de la sangre y que las células hepáticas conviertan luego el residuo privado de Fe en bilirrubina: ejemplo (Zoia) del concurso sucesivo de dos tipos de tejido en la formación de un material cualquiera. Una hipótesis reciente de Whipple admite que la bilirrubina puede formarse sin intervención de la hemoglobina, pero por ahora queda sentado el concepto de que la formación del pigmento biliar marcha de un modo paralelo a la destrucción de hemoglobina, y podemos afirmar con Bock que para las exaltaciones patológicas de éste existe el siguiente orden de sucesión de fenómenos correspondientes: la hemolisis intensa, con brusca y abundante liberación de hemoglobina, produce hemoglobinemia y hemoglobinuria; una hemolisis de mediana intensidad produce hiperbilirrubinemia (ictericia) pero si es muy lenta y crónica produce *hemosiderosis* o depósito de pigmento granuloso ferruginoso (página 160) en los órganos. Pero no existe en esto proporción ni relaciones precisas: se dan casos de destrucción intensa de hematíes, como en el estasis pulmonar o en la resolución de una hepatización roja del pulmón, en los cuales no aparece una hiperbilirrubinemia marcada.

una pequeña porción de la bilirrubina entra directamente en la circulación procedente del hígado y también quizás, según Retzlaf (1) del intestino (delgado) por reabsorción por vía linfática antes de haber tenido tiempo de sufrir el destino normal de la mayor parte de la bilirrubina en el intestino, o sea la reducción a estercobilina por efecto de las bacterias intestinales.

Ha sido Hijmans van der Bergh (2) quien mejor ha puesto en evidencia muy recientemente la bilirrubinemia fisiológica y quien ha estudiado a fondo la forma patológica en sus relaciones con la clínica. Este autor se ha servido para demostrar la presencia de bilirrubina en el suero, del método de la diazorreacción de Ehrlich en líquido ácido (color rojo violeta con el diazo-reactivo, sin alcalinizar) (3) y ha demostrado que los sueros dan a veces la reacción *directa*, es decir, una reacción inmediata si se tratan simplemente por el reactivo dicho; tal sucede en la ictericia por retención *(ictericia estática)* grave o ligera. Por el contrario, en otras ictericias (en las llamadas *dinámico-funcionales*, que comprenden las hemolíticas) y en los sueros normales la reacción es *indirecta*, esto es que sólo hay reacción positiva cuando el suero ha sido tratado previamente por alcohol. Se debe admitir, pues, que la bilirrubina puede encontrarse en el plasma o en el suero en distintas condiciones, quizás en uniones químico-físicas diversas con las proteínas plasmáticas (4). Adler y Strauss (5) conceden importancia al grado de imbibición de las proteínas séricas; los agentes que aumentan este grado de imbibición tienden a enmascarar la bilirrubina y hacen que solamente aparezca la reacción después del tratamiento por el alcohol (que es un desimbibente), mientras que los agentes que desimbiben las proteínas tienden a hacer aparecer la reacción directa: en la ictericia por retención quizá existen en las vías circulatorias substancias desimbibentes que influyen en la reacción directa (las sales biliares?). Adviértase que la bilirrubina demostrable por la reacción indirecta es también la menos eliminable por la orina, quizá por hallarse más íntimamente unida con las proteínas; tanto es así que no existe una bilirrubinuria fisiológica, y la eliminación de pigmentos biliares falta frecuentemente en las ictericias hemo-

(1) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXXIV 1923.
(2) *Der Gallenfarbstoff im Blute*. Leiden, 1918.
(3) El método de H. v. d. B. se practica así: se toman 25 cc. de la solución I de Ehrlich (HCl 15 cc., ácido sulfanílico 1 gr., agua destilada cantidad suficiente para 1 litro) y 0,75 cc. de la solución II (solución al 0,5 % de nitrito sódico): la mezcla se hace en el mismo momento en que se necesita y constituye la solución de diazonio, el diazo-reactivo de Ehrlich. A 1 volumen de suero límpido se añaden 2 vol. de alcohol de 96°; se centrifuga y aspira el líquido que sobrenada. A 1 volumen de este líquido se añade 1/4 de vol. de diazo-reactivo fresco: coloración rojo violeta. Si el líquido era turbio, se aclara previamente calentándolo un poco (se trata de ácidos grasos) o añadiéndole una gota de éter ó 0,5 cc. de alcohol. Basta (Sabatini. *Policl.* Sez. med., 1922) 0,5 cc. de suero. Esta es la *reacción indirecta*. La *directa* se verifica con el suero no tratado por el alcohol (0,5 cc. de suero, 1 cc. de agua destilada y luego 0,3 cc. de diazo-reactivo).
(4) Véase también Lephene, *Ziegler's Beitr.*, vol. LXIV.
(5) *Klin. Woch.*, 1922, n.° 46.

líticas o dinámicas, que tienen pues la característica de ser acolúricas (1).

2.° *Compuestos nitrogenados no proteicos* (que constituyen el llamado *nitrógeno residual*). — Se trata de términos más o menos avanzados del metabolismo proteico o de aminoácidos reabsorbidos del tubo intestinal y destinados a la restauración de los tejidos o a ser quemados en éstos: son por lo tanto productos catabólicos o materiales anabólicos que se encuentran en el plasma durante su paso desde los tejidos a los emunctorios, del tubo digestivo a los tejidos o de unos tejidos a otros (metabolismo endógeno de las proteínas). El conjunto de estos compuestos constituye lo que se llama *nitrógeno no coagulable*, porque representa el N que queda en el plasma o en el suero después de la precipitación o coagulación de las proteínas (por ejemplo, por medio de una ligera acidificación y calentamiento). En rigor debería incluirse también en el N no proteico el derivado del pigmento hemático citado más arriba, pero hemos hablado de él junto con los componentes proteicos por las relaciones que posee con el cromoproteido del cual se deriva, por unidad de exposición (ya que es muy cómodo hablar, por ejemplo, de hemoglobinemia y de bilirrubinemia al mismo tiempo) y, finalmente, por los probables enlaces químico-físicos entre algunos de estos cuerpos (pigmentos biliares) y las seroproteínas. El N residual o N no coagulable existe en la cantidad de 52-79 mgr. por 100 cc. en el suero de perro (la cifra más baja se obtiene durante el ayuno; la más alta, durante la digestión) y de 25 a 60 mgr. por 100 cc. en el suero humano, con notables variaciones según las condiciones fisiológicas (aumento durante la digestión) y grandes aumentos especialmente en la retención nitrogenada (azotemia) de los nefríticos. El 50-80 % de este N es N ureico; el resto procede de los aminoácidos, ácido úrico, creatinina, ácido hipúrico, etc.

Vamos a dar algunos datos, entresacados en su mayor parte de publicaciones americanas, acerca de la proporción de N no proteico y de algunas substancias relacionadas con él en la *sangre humana;*

N no proteico contenido en 100 cc. de sangre:

Según Folin y Denis *(Journ. of biol. Chem.*, vol. XIV, pág. 29, y vol. XVII, pág. 487)	mgr.	22-37
Según Bang *(Bioch. Zeitschr.*, vol. LXXII, pág. 104)	»	19-39
Según Mc Lean y Selling *(Journ. of biol. Chem.*, vol. XIX, página 31)	»	23-44
Según Gettler y Baker *(Ibid.*, vol. XXV, pág. 209)	»	30-45

N de la urea contenido en 100 cc. de sangre:

Según Folin y Denis	mgr.	12-27
» Gettler y Baker	»	15-25

(1) Para detalles y comparaciones entre los distintos métodos de reconocimiento del pigmento biliar en la sangre, véase: Holzer y Mehner, *Klinische Woch.*, 1922, número 2; Lephene, *Deutsche med. Woch.*, 1923, n.° 20; y Sabatini, *Policlínico*, Sez. med., 1922; Sez. prat., 1922 (en el mismo lugar se encuentra un método propio, cómodo y sencillo para identificar la bilirrubina en la sangre). Nótese incidentalmente que parece existir también una *colalemia fisiológica* (presencia de ácidos biliares en la sangre): véase el trabajo de Retzlaf, ya citado.

N. amoniacal contenido en 100 cc. de sangre:

Según Gettler y Baker	mgr.	0,4-0,75

Acido úrico contenido en 100 cc. de sangre:

Según Folin y Denis	mgr.	0,7-3,7
» Gettler y Baker	»	1,0-3,5
» Myers y Fine	»	1,0-2,0

Creatina y creatinina contenidas en 100 cc. de sangre:

	creatina	creatinina
Según Folin y Denis	mgr. 5,2-8,1	mgr. 1,1-1,4
» Myers y Fine	» 5-10	» 1-2
» Gettler y Baker	» 3-6,5	» 0,1-0,5

Hammet (1) ha hecho un estudio interesante acerca de la amplitud de las variaciones individuales en el valor de las distintas fracciones de N no proteico; parece que la creatina es el constituyente nitrogenado de menor variabilidad (o de mayor constancia), en relación con la raza y con los caracteres individuales.

En la siguiente tabla se encontrarán los datos de Folin y Denis (2) sobre las distintas fracciones de N no coagulable, contenidas en la sangre normal y en casos patológicos (indicados en mgr. por 100 cc. de sangre):

	N no proteico	N de la urea	N amoniacal	Acido úrico	Creatinina	Creatina + creatinina
Individuo normal con dieta apurínica rica en N. — N urinario 24 gr.	34	16	0,1	2,5	1,1	9,5
Normal, N urinario 17 gr.	37	18	0,1	3	1,2	8,5
Normal, dieta escasa en N, eliminación de N urinario: 6,2 gr.	32	15	0,14	2	1,3	6,5
Normal, N urinario: 4,5 gr.	24	11	0,11	2	1,4	6,9
Cardio-renal descompensado	26	12	0,5	2,8	1,8	10
Tifoidea, 2.° septenario	38	19	0,08	2	1,1	10
Cardio-renal descompensado	326	266		4,4	1,4	8,3
Uremia	288	222		9,5	31	
Uremia, 2 días antes de la muerte	228	180		7,5	32	36
Nefritis crónica	200	140			7,5	13
Uremia, anuria	148	110	1	6,5	10,6	28
Convulsiones urémicas	88	70	1	3,5		6,6
10 años, uremia, convulsiones, edema	74	5,2	0,66	4		6
Pulmonía antes de la crisis	72	44		5	1,5	20

En las retenciones nitrogenadas de las formas graves de uremia, según Myers y Fine (3), se llega a cifras de 350 mgr. de N no coagulable por 100 cc. de sangre total. Estos autores dan datos precisos acerca de las distintas fracciones de N residual de la sangre urémica.

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XLI, pág. 599.
(2) Id., vol. XVII, pág. 487.
(3) *Id.*, vol. XX, pág. 391.

Veamos ahora, con mayor detalle, algo acerca de los distintos compuestos de este grupo.

Ante todo nos ocuparemos de la presencia, actualmente bien demostrada de *aminoácidos* en la sangre, reconocidos y diferenciados principalmente por ABDERHALDEN trabajando con grandes cantidades de sangre. El N de los aminoácidos se evalúa en 3-4 mgr. por 100 cc. de sangre de perro, según v. SLYKE y MEYER (1), y en 4-5 mgr. según GYÖRGY y ZUNZ (2). En el hombre ROSENBERG (3) ha encontrado unos 10 mgr. de N de los aminoácidos (siempre para 100 cc. de sangre). Según FOLIN (4), después del N ureico, la fracción más considerable del N no proteico de la sangre es el N de los aminoácidos. Adviértase que, como ha demostrado COSTANTINO (5), una parte notable de los aminoácidos está unida a los hematíes, y sólo la mitad o aun menos se halla disuelta en el plasma. Los aminoácidos aumentan notablemente en la sangre durante la digestión de las comidas a base de albuminoides y no sólo en la sangre de la vena porta sino también en la arterial; no todos son, pues, detenidos por el hígado. Aumentan también después de las sangrías abundantes (hiperaminacidemia posthemorrágica: GYÖRGY y ZUNZ); se han encontrado aumentados en el curso de las afecciones hepáticas graves, en el envenenamiento por el fósforo, en la atrofia amarilla aguda, etc., en cuyos casos deben tener un significado catabólico y proceder de la desintegración de las proteínas de los órganos (hígado), no siendo por lo tanto materiales de restauración para los tejidos.

También tienen carácter desasimilativo los siguientes constituyentes nitrogenados del plasma y del suero:

Urea, de la que existen normalmente unos 0,05 gr. por 100 cc. de suero. Según la escuela de WIDAL, un contenido de más de 0,5 por litro de suero es sospechoso, y más de 1 gr. revela un estado de retención nitrogenada o *azotemia*. En las determinaciones de CULLEN y ELLIS (6) se encontró como término medio (tabéticos) 0,029 gr. de urea por 100 cc. de sangre (y una cantidad aproximadamente igual en el líquido céfalo-raquídeo). En el perro, según MARSHALL y DAVIS (7), se encuentran 0,025-0,033 gr. de urea por 100 cc. de sangre y por 110 gramos de tejidos frescos: en efecto, la urea es extraordinariamente difusible, atraviesa las membranas celulares y se encuentra en todos los tejidos en mayor o menor cantidad (máxima concentración en el riñón; mínima en el tejido adiposo). Es notable la enorme proporción de urea que existe en la sangre de los selacios (más del 1 %).

Acido úrico: en 100 cc. de sangre se encuentran normalmente 2-4 mgr. de ácido úrico, valor bastante constante que aumenta sin embargo, con las comidas ricas en purinas y, según HELLMUTH (1), en el parto. Hay que tener muy en cuenta el hecho descubierto por BENEDICT (2) en la sangre de buey, y confirmado en la sangre humana por GRIESBACH y BERNSTEIN (3) y mejor estudiado recientemente por GRIESBACH (4), de que el ácido úrico de la sangre está libre en parte y en parte unido a otros componentes plasmáticos de los cuales se separa por la hidrolisis con HCl; según datos de BENEDICT, RHODE y DAVIS (5), en la sangre de buey existiría un *nucleósido* del ácido úrico, compuesto precisamente de pentosa y ácido úrico. Según GRIESBACH es también cierto que, tanto el ácido úrico libre como el unido y separable con HCl, crece o disminuye en la sangre abandonada a sí misma durante algunas horas a 37°, lo que quizá revela fenómenos enzimáticos que en el primer caso hacen aparecer ácido úrico derivado de otros cuerpos púricos de los cuales existen también indicios en la sangre, o que en el segundo atacan al ácido úrico (uricolisis). Por lo tanto, la dosificación del ácido úrico en la sangre debería hacerse teniendo en cuenta las dos fracciones y usando sangre muy fresca, conservada a 0°.

TANNHAUSER y WEINSCHENK (6) y otros, han intentado comprobar si existe alguna relación entre la cantidad de ácido úrico contenida en la sangre y el tipo constitucional, pero no se han encontrado relaciones precisas con la constitución artrítica, neuroartrítica, con la tendencia a los eczemas, asma, etc. El llamado tipo *uricémico* o, como sería mejor denominarlo, *hiperuricémico* no está químicamente definido con seguridad. Las *hiperuricemias* más marcadas se han descrito en las leucemias, por la intensa disgregación leucocitaria (hasta 23 mgr. de ácido úrico por 100), y además en todos los casos en que hay una destrucción celular intensa, por reabsorción de exudados, acción de los rayos Röntgen, etc. (pneumonía, tumores, etc.), en la gota, en la que se encuentran valores menos elevados de lo que podría creerse, 4-8 mgr. por 100, por término medio, sólo alguna vez hasta llega 15-17 mgr. (son aquellos casos en que da resultado positivo la antigua prueba del hilo, de GARROD: un hilo, sumergido en la sangre acidulada con ácido acético, se recubre de cristalitos de urato monosódico); lo mismo sucede en las nefritis (hiperuricemia *por retención)*, en las cuales el ácido úrico puede, según las recientes investigaciones de KRAUSS (7), influir notablemente en la retención nitrogenada.

El ácido úrico de la sangre y de los tejidos se encuentra combinado generalmente en forma de urato monosódico, pero las investigaciones recientes hacen pensar que, además de la combinación alcalina, puede encontrarse en estado de pseudosolución coloidal en los líquidos orgánicos (Parte Primera, Cap. VII, *h*).

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol XII, pág. 400.
(2) *Id.*, vol. XXI, pág. 511.
(3) *Bioch. Zeitschr.*, vol. LXII.
(4) *Journ. of biol. Chem.*, vol. LI, pág. 377.
(5) *Bioch. Zeitschr.*, vol. LV, pág. 419.
(6) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XX, pág. 511.
(7) *Id.*, vol. XVIII.

(1) *Klin. Woch.*, 1922, pág. 2478.
(2) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XX.
(3) *Bioch. Zeitschr.*, vol. CI y CVI.
(4) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXXVII, fasc. 1-2, 1923.
(5) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XLVI.
(6) *Arch. f. klin. Med.*, vol. CXXXIX, pág. 100, 1922.
(7) *Deutsch. Arch. f. klin. Med.*, vol. CXXXVIII 1922.

Sobre este punto y sobre otros referentes a la química del ácido úrico, insistiremos a propósito de la gota.

Acido hipúrico: existe en pequeña cantidad; se puede reconocer por el método de FRIEDMANN y TACHAU (1), adoptado también en los recientes trabajos de SNAPPER y GRÜNBAUM (2), quienes han encontrado un aumento del ácido hipúrico en la sangre en los casos de retención nitrogenada (nefritis crónicas).

Creatina y *creatinina;* según MYERS y FINE (3), normalmente se encuentran 1-2 mgr. de *creatinina preformada* por 100 cc. de sangre; según GETTLER y BAKER, sólo 0,1-0,5 mgr. (véase datos en la pág. 391). En cuanto a la *creatina*, existen según los diversos autores, de 3 a 10 mgr. por 100 cc. de sangre. Esta fracción, como todas las demás fracciones nitrogenadas, también aumenta mucho en los casos de retención por lesión renal: se han encontrado hasta 30 mgr. por 100.

Amoníaco; se encuentra en pequeña cantidad, que se evalúa normalmente alrededor de 0,77-0,84 mgr. por 100 cc. de sangre según TULLIO (4) y de 0,39-0,51 mgr. según GAD-ANDRESEN (5); existe cosa de 1 mgr. por término medio según GHERARDINI (6) y frecuentemente la proporción es menor, sin que sufra aumento en las retenciones de origen renal.

Indoxilo e *indican*, *ácidos oxiproteínicos*, etc.

3.° *Compuestos orgánicos no nitrogenados.* — Pertenece a este grupo y es esencial, la *glucosa*, que se encuentra normalmente en cantidad de 0,08-0,1 gr. por 100 cc. de sangre total.

Su disminución más allá de un cierto límite (0,04-0,06 %) va acompañada de graves fenómenos, que van exaltándose hasta llegar al coma *(coma hipoglucémico)* y finalmente a la muerte, como sabemos actualmente después de los experimentos realizados con la insulina (la hormona de los islotes de LANGERHANS del páncreas) de que hablaremos a su debido tiempo. Parece, pues, que el organismo requiere una *concentración glucémica* mínima, quizá porque la glucosa es el combustible inmediato de las células y el material más directamente utilizable para los fines energéticos, y por lo tanto, el organismo procura que se halle siempre en la sangre en cantidad suficiente, transformando en azúcar las proteínas y hasta las grasas, cuando el aporte alimenticio de hidratos de carbono no es suficiente. A medida que las células la consumen, se forma nueva glucosa a expensas de los depósitos de glucógeno (hígado, músculos) que no deben quedar nunca exhaustos; si la glucosa es introducida en exceso por la vía alimenticia (como a tal o en forma de hidratos de carbono despolimerizables en el tubo digestivo en glucosa u otro azúcar capaz de ser transformado en glucosa) el exceso se almacena en forma de glucógeno en

(1) *Bioch. Zeitschr.*, vol. XXXV.
(2) *Klin. Woch.*, 1924, n.° 3.
(3) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XX, pág. 391.
(4) *Arch. di Fisiol.*, vol. X.
(5) *Journ. of biol. Chem.*, vol. LI, pág. 367.
(6) *Arch. Scienze biol.*, vol. IV, n.° 1 y 2.

los depósitos dichos; en la vida fisiológica hay, por lo tanto, una regulación automática gracias a la cual el índice glucémico permanece constante y se establece un equilibrio entre los hidratos de carbonos fijos o de reserva (glucógeno) y los hidratos de carbono movilizables y aptos para el consumo inmediato (glucosa de la sangre). En esta regulación interviene el sistema nervioso vegetativo: las substancias excitadoras del simpático, y de una manera típica la adrenalina, producen hiperglucemia, esto es, devían el equilibrio en el sentido de una movilización de los hidratos de carbono de reserva (glucógeno) en hidratos de carbono disueltos en el plasma en forma de azúcar: el simpático eleva el tono glucémico de la sangre. Por otra parte, está actualmente demostrado que las substancias estimulantes del parasimpático, como la colina, la acetilcolina, la pilocarpina, la fisostigmina, dan también una hiperglucemia, que la atropina, de acción paralizante sobre el parasimpático, puede contrarrestar.

Nótese incidentalmente que, para regular la concentración glucémica, no parece que haya un antagonismo claro entre las dos grandes secciones del sistema nervioso vegetativo, pues existe una hiperglucemia *simpática* y una hiperglucemia *parasimpática*, como habrían demostrado BORNSTEIN y BORNSTEIN y VOGEL (1).

Por lo demás, la cantidad de azúcar de la sangre se puede modificar experimentalmente por la abundante administración *per os* de azúcar; dando a un individuo sano 100 gr. de glucosa *per os*, si se dosifica cada 10 minutos el azúcar de la sangre se obtiene una *curva* glucémica característica: asciende rápidamente y alcanza su máximo (0,15-0,2 %) al cabo de media hora, el descenso es más lento: en dos horas o dos horas y media vuelve al nivel normal, y algunas veces se observa una ligera hiperglucemia subsiguiente. En los diabéticos la curva glucémica obtenida mediante esta prueba, de valor clínico no pequeño, se eleva más y llega más tarde al máximo, mientras que el descenso es mucho más lento. También en los enfermos hepáticos se encuentran curvas glucémicas cuyo descenso es más prolongado. En las formas de diabetes renal, como en la glucosuria gravídica, que actualmente se considera de origen renal, la curva de la glucemia después de la administración de glucosa es perfectamente normal; aumento rápido y moderado de la concentración glucémica, que desparece pronto. El trabajo muscular hace disminuir normalmente el índice glucémico, aunque por lo regular después de una hiperglucemia ligera y transitoria; en el diabético es más difícil obtener un descenso del índice glucémico, *anormalmente elevado en esta enfermedad*, y hasta por lo regular se observa aumento del azúcar de la sangre inmediatamente después de un fuerte trabajo muscular (2). La glucosa es uno de los componentes de la sangre que están dotados, de un modo bien característico, de un *límite*

(1) *Bioch. Zeitschr.*, vol. CXIV y CXVIII.
(2) BÜRGER, *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. V; *Archiv für exper. Pathol. u. Pharmak*, vol. LXXXVII.

de eliminación renal: el riñón es impermeable para ella hasta que el contenido de azúcar en la sangre alcanza un cierto valor (cerca de 0,18-0,2 %), más allá del cual el azúcar aparece en la orina (glucosuria). En la prueba de la sobrecarga de glucosa antes citada, en la cual no se rebasa en el sano la proporción de 0,2 %, no existe normalmente glucosuria, pero se presenta en la diabetes, hasta en la forma latente, en la cual el índice glucémico ya es elevado y con el azúcar que pasa a la circulación excede fáoilmente el mencionado *límite*. Parece que este límite está disminuído en el embarazo, en el cual pueden existir glucosurias con índice glucémico que no bastaría para forzar la barrera renal en mujeres no embarazadas; esta *glucosuria por hiperglucemia fisiológica* (como la que se obtiene al administrar 100 gr. de glucosa *per os)*, que aparece desde los primeros meses del embarazo, debería tener cierto valor para el diagnóstico de éste, pero ya insistiremos sobre ello en la Sección III, Capítulo III.

La cantidad de azúcar contenida en la sangre crece por la acción de las sales de Mg (1), y desciende con la inyección de fosfatos (2). Los ácidos tienden en general a elevar la concentración de azúcar en la sangre: los estados de acidosis son favorables a la transformación glucógeno → glucosa, tanto es así que la inyección intravenosa de pequeñas cantidades de ácidos en el conejo y en el perro basta para movilizar la glucosa, haciendo aparecer una hiperglucemia (con glucosuria) y disminuyendo el glucógeno del hígado. También en el ayuno está disminuída la tolerancia para los hidratos de carbono, que se revela por una persistencia notable de la hiperglucemia después de la administración de azúcar, precisamente porque en el ayuno existe un estado de acidosis. Por el contrario, los álcalis elevan la tolerancia para los hidratos de carbono, tendiendo a reducir la hiperglucemia (hasta la producida por la adrenalina y por el estímulo de los centros nerviosos — cuerpos estriados, hipotálamo, bulbo — y vías nerviosas — nervio esplácnico — reguladores del tono del azúcar en la sangre); son favorables, por lo tanto, a la reacción en el sentido glucosa → glucógeno.

Una pequeña porción del azúcar se encuentra, como ya se ha dicho, en los hematíes, precisamente en aquellas especies en las cuales los hematíes son permeables para él (pág. 361); en su mayor parte se hallan en el plasma: no existe acuerdo acerca de si se encuentra libre, como opinan la mayoría de los autores alemanes y americanos, o combinado en parte con las proteínas, como sostiene Lepine (3) y creen también Bierry y Rathery (4). En este último caso existiría un azúcar libre y otro fijo (o *azúcar virtual)*. Hay también quien opina, como Schmiedeberg (5), que en la diabetes el azúcar se encuentra

(1) Kleiner, *Journ. of biol. Chem.*, vol. LIX.
(2) Elias y Weiss, *Berl. klin. Woch.*, 1921, pág. 951.
(3) *Le sucre du sang*, París, 1921.
(4) *Compt. rend. Acad. d. Sciences*, vol. CLXXII, 1921.
(5) *Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmak.*, 1920.

fijado en una forma especial que lo hace menos utilizable para los tejidos. Pero acerca de estos puntos existen muchas incertidumbres.

La sangre contiene también pequeñas cantidades de *otros hidratos de carbono*, una *pentosa* y *ácido glicurónico* (1). También se han encontrado otros cuerpos reductores de tipo de *aldehidos*, quizá principalmente aldehido acético (2).

Stepp (3) y Feigl (4) presentan la crítica más completa de los métodos analíticos para la investigación de la glucosa de la sangre y para su distinción de las otras substancias reductoras, nitrogenadas o no.

Como producto de la combustión de la glucosa se halla en el plasma el *ácido láctico* (0,01-0,02 %), que aumenta después de un fuerte trabajo muscular. En los estados de acidosis se encuentran también los distintos *cuerpos cetónicos*, como veremos en otro lugar.

Las *grasas* y *lipoides* de la sangre existen tanto en los corpúsculos como en el plasma (5); hablaremos de ellos junto con la *colesterina*. Del trabajo de resumen de Allen (6) hemos sacado el siguiente cuadro, que servirá de orientación; está compuesto principalmente a base de los trabajos de Bloor (7), el autor americano que recientemente ha profundizado el estudio de las substancias grasas en la sangre en condiciones normales y patológicas. En el cuadro de Allen, para muchos datos (como los referentes a la sangre humana) se citan los valores máximos, mínimos y medios encontrados: nosotros nos limitamos a transcribir los medios, haciendo notar que las oscilaciones en los individuos normales distan mucho de ser pequeñas: así, por ejemplo, la *colesterina* tiene un valor máximo de 0,31 % y un mínimo de 0,19 % en el plasma del hombre, pero se da 0,22 % como valor medio (Bloor). Una pequeña parte de la colesterina del plasma (1/4-1/5) se encuentra en estado libre, mientras que la mayor parte se hallan formando ésteres, combinada con ácidos grasos (principalmente con ácido oleico; en menor cantidad con ácido palmítico); en los corpúsculos, por el contrario, está libre en su totalidad. Las cifras de la colesterina contenida en la sangre humana normal son, según otros observadores, un poco inferiores a las del cuadro de Allen: así Autenrieth y Funk dan los valores de 0,14 a 0,16 %; Stepp de 0,13-0,17 %, etcétera. Se encuentran muchos datos, hasta de índole técnica, en la

(1) Stepp, *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. CVII.
(2) Stepp, *Bioch. Zeitschr.*, vol. CVII; *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. CXLIV.
(3) *Ergebn. d. Physiol.* de Asher y Spiro, vol. XX, 1922.
(4) *Bioch. Zeitschr.*, vol. LXXVII.
(5) En este último parece que las llamadas *hemoconias* están constituídas por grasa, y aparecen especialmente después de las comidas abundantes en grasa, si éstas son normalmente absorbidas, como han demostrado Lemierre y Brule (L., B. y colaboradores, *Presse médic.*, 7 agosto 1919): la investigación de las hemoconias después de la ingestión de grasa sería una prueba de que la bilis se vierte normalmente en el intestino para facilitar la absorción de la grasa.
(6) *Journ. of metabolic research.*, vol. II, fasc. 2.°, 1922.
(7) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XVI, XIX, XXIII, XXV, XXVI, XXXI, XXXIII, XXXVI, XLV, XLIX.

	Acidos grasos totales			Lecitina %			Colesterina %			Grasa neutra %			Relación Acidos grasos totales-lecitina			Relación Lecitina-colesterina		
	Sangre total	Plasma	Corpúsculos	Sangre total	Plasma	Corpúsculos	Sangre total	Plasma	Corpúsculos	Sangre total	Plasma	Corpúsculos	Sangre total	Plasma	Corpúsculos	Sangre total	Plasma	Corpúsculos
Hombre	0,36	0,38	0,36	0,30	0,22	0,40	0,21	0,22	0,19	—	0,11	0,07	1,20	1,68	0,89	1,44	0,96	2,08
Mujer	0,36	0,40	0,29	0,29	0,19	0,44	0,23	0,24	0,21	—	0,16	0,01	1,31	2,15	0,69	1,29	0,82	2,14
Perro	0,52	—	—	0,33	—	—	0,17	—	—	—	—	—	1,58	—	—	1,90	—	—
Conejo (dieta de zanahorias, según Horiuchi)	0,28	0,22	0,36	0,21	0,10	0,40	0,10	0,06	0,16	—	—	—	1,34	2,19	0,91	2,10	1,82	2,52

monografía de SIGNORELLI (1) y en un trabajo de resumen de CHAUFFARD, LAROCHE y GRIGAUT (2).

Después de una comida rica en colesterina (yemas de huevos, etc.) hay una hipercolesterinemia de breve duración : citemos las notables investigaciones de ANITSCHKOW (3) acerca del depósito de ésteres colesterínicos en las células del aparato retículo-endotelial y en la íntima de las arterias, por la administración prolongada de colesterina a los conejos, con producción de lesiones variadas en los vasos, de tipo ateromatoso.

Existe una hipercolesterinemia fisiológica en la segunda mitad del embarazo y también en la menopausia.

A propósito de esto, ha sido muy estudiada la riqueza en colesterina de la placenta : COVA, en un trabajo completo, resume la bibliografía (4) y encuentra un 2 % (referida al peso seco) de colesterina en la placenta humana a término ; en la placenta de las eclámpsicas y albuminúricas, así como en las sifilíticas, se halla una cantidad de colesterina superior a la normal. La placenta, según COVA, vertería cierta cantidad de su colesterina en la sangre materna y sería, por lo menos en parte, responsable de la hipercolesterinemia gravídica.

Con esta hipercolesterinemia y lipemia gravídica está relacionada la llamada reacción de NEUMANN-HERRMANN (5), estudiada por GAIFAMI (6) y COVA (7), que consiste en la precipitación de un extracto alcohólico de sangre (convenientemente diluída) en contacto del agua.

Patológicamente hay hipercolesterinemia en el período avanzado y en la convalescencia de las enfermedades infecciosas : se ha dicho que la curva hipercolesterinémica acompaña a la de los anticuerpos o de la inmunidad.

Además hay hipercolesterinemia y en general *lipemia* (aumento de los cuerpos grasos de la sangre) en la diabetes : BLOOR ha encontrado en la diabetes hasta un 11,2 % de grasa total en el plasma, con 1,5 % de colesterina. En la diabetes la hipercolesterinemia y la lipemia acentuadas son propias de las formas graves, con acidosis; tengamos desde ahora presente el síndrome compuesto por los tres síntomas : la *acetonemia*, la *lipemia* y la *infiltración grasosa del hígado*, síndrome que se encuentra en las diabetes avanzadas y también, en forma atenuada, en estados aglucosúricos, tales como la inanición prolongada.

En los casos de *xantoma* y *xantelasma* hay frecuentemente una hipercolesterinemia, que explica en parte las acumulaciones locales de colesterina.

En la *colelitiasis* se ha descrito una hipercolesterinemia, pero pro-

(1) *Colesterinemie*, Florencia, 1915.
(2) *Anal. d. Med.*, vol. VIII, 1920.
(3) *Ziegler's Beitr.*, vol. LVI y LVII.
(4) *Folia gynaecologica*, vol. IX, fasc. 3.°, 1914.
(5) *Wien. med. Woch.*, 1911.
(6) *Annali Ostetricia e Ginecologia*, 1912.
(7) *Id.*, 1913.

bablemente no es constante : según BARBARCZY (1) se encuentra sólo en los accesos de cólico, por la ictericia, aun ligera, que los acompaña; es natural que en las ictericias por retención, la colesterina, que abunda en la bilis reabsorbida, se encuentre en el plasma sanguíneo junto con los pigmentos y otros consittuyentes biliares. Pero no sabemos con seguridad si existe una colecistitis debida a una hipercolesterinemia primitiva, aunque es muy verosímil (véase también pág. 335 y 338). También habría hipercolesterinea en ciertas afecciones renales (nefrosis con degeneración lipoide abundante).

DUCCESCHI (2), DUCCESCHI y BARILARI (3) y FEIGL (4) han demostrado el aumento de la colesterina y la lecitina de la sangre en la intoxicación alcohólica.

Existe hipercolesterinemia en las anemias graves (5), en las caquexias, en la tabes dorsal y en la extrema vejez.

Citemos la *lipemia de las sangrías* y de las hemorragias graves. Según JASTROWITZ (6) la lipemia de los anémicos es frecuentemente una lipoidemia con aumento frecuente de los lipoides en los hematíes.

Después de las comidas ricas en grasa hay un aumento de la grasa de la sangre : en el perro, BLOOR ha visto aumentar la grasa desde 0,59 a 1,2 % ; pero la grasa de la sangre no aumenta si se ha ligado previamente el conducto torácico, prueba de que la grasa reabsorbida sigue la vía de los vasos linfáticos intestinales y del conducto torácico para llegar a la sangre. Por lo demás, las oscilaciones de la proporción de grasa han sido menos estudiadas que las de la colesterina y los ésteres colesterínicos y en parte, como en la diabetes, han sido estudiadas asociadamente.

En el suero (y naturalmente en el plasma) se encuentra normalmente un lipocromo, la *luteína*, como descubrió primeramente ZOIA (7). Esta deriva del lipocromo (carotinoide, xantofila) de los vegetales alimenticios ; es escasa en los individuos sometidos a dieta láctea, pobre en lipocromo ; aumenta, produciendo a veces las llamadas *pseudoictericias carotinémicas* (como sucede frecuentemente con los niños pequeños) en los individuos alimentados con muchas zanahorias y también en los que comen calabaza y mandarinas en abundancia. KOHN ha estudiado recientemente (8) esta carotinemia en los niños, elaborando métodos especiales para el reconocimiento y dosificación de la carotina. Los mismos fenómenos se observan en los animales : PALMER y KEMPSTER (9) encontraron en las gallinas relaciones muy

(1) *Klin. Woch.*, 1922, n.° 37.
(2) *Arch. di Fisiol.*, vol. XIII.
(3) *Id.*, vol. XIV.
(4) *Bioch. Zeitschr.*, vol. XXII.
(5) BLOOR, *Journ. of biol. Chem.*, vol. XXXI.
(6) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXVII, 1922.
(7) *Rend. R. Inst. Lomb. scienze e lettere*, fasc. 37, 1904.
(8) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXXVI, pág. 447, 1923.
(9) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XXXIX, n.° 2, 1919.

claras entre la riqueza en carotinoides del régimen alimenticio y la coloración amarilla de la yema del huevo, del pico y de las patas.

4.° *Sales.* — El plasma sanguíneo contiene sales, en parte en estado de disociación electrolítica (por lo tanto en forma de *iones)* y en parte disueltas molecularmente y también unidas en forma lábil y reversible con las proteínas. La proporción de sales del plasma tiene gran importancia para su equilibrio coloidal y para el desenvolvimiento natural de las funciones celulares ; debe existir en la sangre una cierta proporción entre los iones Na, K y Ca correspondiente a la concentración de los tres cloruros respectivos en la proporción aproximada de 100 : 2 : 2 (concentración molar) para que las funciones orgánicas se verifiquen normalmente. Además, las sales tienen una gran influencia en el mantenimiento de la presión osmótica del plasma. A causa de todo ello dejaremos para el capítulo siguiente el estudio de estas cuestiones que encajan mejor en la Química-física general del medio orgánico interno y de las células.

Solamente diremos que el suero tiene la siguiente composición mineral (por litro) :

	HOMBRE (SCHMIDT)	OTROS ANIMALES (según BUNGE y según ABDERHALDEN)
K_2O	0,387—0,40	0,225—0,270
Na_2O	4,29	4,25 —4,42
CaO	0,155	0,119—0,131
MgO	0,101	0,040—0,046
Cl	3,565—3,659	3,627—4,170
P_2O_5	—	0,052—0,085

La proporción de Ca y la de fosfatos (por lo tanto el fósforo *inorgánico*, que debe distinguirse del P de los fosfátidos) (1) han sido muy estudiadas en estos últimos años en relación especialmente con la patogenia del raquitismo, de la espasmofilia y tetania infantiles, estados morbosos considerados por muchos como efectos del desequilibrio en la composición mineral y precisamente en iones Ca por una parte y en iones K y PO_4 por otra. Solamente diremos aquí que mientras el Ca tiene una acción sedativa sobre la excitabilidad neuro-muscular, el K y los fosfatos poseen una acción opuesta, acrecentadora por lo tanto de la excitabilidad ; así se desprende de los trabajos de NEUSCHLOSZ, según el cual el tono muscular de los mamíferos estaría en relación con el contenido en K de la sangre o de los líquidos de perfusión (2), y de las investigaciones más recientes sobre la *tetania por los*

(1) En el suero se encuentran tres fracciones de P : el inorgánico (de los fosfatos), el lipoidal (fosfátidos) y, en cantidad mínima, el de los núcleoproteidos. En el *plasma* oxalatado parece que falta esta última fracción ; los núcleoproteidos del suero derivan probablemente de la destrucción celular y especialmente de los leucocitos y las plaquetas ; también MEIGS, BLATHERWICK y CARY *(Journ. of biol. Chem.*, vol. XXXVII, pág. 1) confirman esta conclusión en un extenso trabajo sobre el metabolismo del Ca y del P en las vacas lecheras. ABDERHALDEN da para el suero de buey las siguientes cifras : P inorgánico, 0,0037 % ; P de las lecitinas, 0,0067% ; P de las nucleínas, 0,0006 % ; total, 0,0110 % de fósforo.
(2) *Klin. Woch.*, 1923, n.° 1-6.

fosfatos (1). Los valores dados como normales por estos investigadores modernos son, de 10 mgr. de Ca por 100 cc. de suero ; unos 18-21 mgr. de K para 100 cc. de suero (2) ; 12 mgr. aproximadamente de P_2O_5 en 100 cc. de sangre total en el conejo y unos 4,5-6 mgr. de P inorgánico en 100 cc. de suero (3) en el hombre (investigaciones en los niños de menos de tres años, según HOWLAND y KRAMER) (4).

5.° *Fermentos.* — En el plasma sanguíneo se encuentran varias enzimas : una *amilasa*, una *maltasa* y quizás *proteasas*, de que ya hemos hablado a propósito de las proteínas séricas. Estas proteínas están siempre dotadas de una resistencia particular frente a los agentes proteolíticos, que probablemente está en relación con su misma estructura físico-química ; esta estructura puede ser alterada por distintos agentes, unos *in vivo*, como las inyecciones de proteínas heterólogas, otros *in vitro*, como la adición de substancias adsorbentes; en estos casos podrían presentarse fenómenos de autoproteolisis sérica (página 381). También existe en el plasma una lipasa que, sin embargo, solamente es activa sobre la monobutirina pero no sobre los ésteres comunes de los ácidos grasos superiores ; no aparece una lipasa activa para éstos ni aun inyectando en la circulación emulsiones de grasas neutras (5). Estos fermentos representan en cierto modo unos agentes de digestión parenteral contra los materiales que penetran en la circulación venciendo o evitando la barrera protectora del tubo digestivo. Estos fermentos son los que aumentan, solicitados probablemente de los tejidos a la sangre, cuando se inyectan substancias atacables (azúcares, proteínas) y obran como *fermentos defensivos* de ABDERHALDEN, ya citados en el capítulo I de esta sección.

Citemos solamente un fermento activador de la ureasa, encontrado en el suero por JACOBI (6).

No se sabe todavía con seguridad qué relación existe entre estos fermentos normales (a los cuales corresponden propiedades antifermentativas, como el *poder antitripsico* ya citado) y los fermentos defensivos que aparecen por la administración parenteral de proteínas, por una parte, y por la entrada de anticuerpos normales o de inmunización por otra. Acerca de las substancias pertenecientes a la inmunología, diremos algo en capítulo aparte.

d) LA COAGULACIÓN DE LA SANGRE.

El proceso de la coagulación de la sangre es una de las cuestiones más intrincadas de la Química biológica y puede decirse que todavía

(1) FREUDENBERG y GYORGY, *Bioch. Zeitschr.*, vol. CXXIV, 1921.
(2) KRAMER y TISDAL, *Journ. of biol. Chem.*, vol. XLVI, n.° 2, 1921.
(3) Según ZUCKER y GUTMAN *(Proc. of Soc. f. exper. Biol. a. Med.*, 1922, vol. XIX, página 167) no se hallan diferencias al hacer la dosificación del P inorgánico en el plasma, en el suero o en la sangre total. Las cifras, en individuos normales, son (Método de BELL y DOISY, *J. of bio. Chem.*, vol. XLIV, 1920) de 4-5 mgr. por 100 centímetros cúbicos.
(4) *Monatschr. f. Kinderheilk.*, vol. XXV, 1923.
(5) C. FOÁ, *Giorn. R. Accad. di Med.*, Turín, 21 mayo 1915.
(6) *Bioch. Zeitschr.*, vol. CXIV.

hoy permanece en gran parte en la oscuridad. Fundamentalmente consiste en la transformación del fibrinógeno del plasma en fibrina, es decir, en un cuerpo sólido y filamentoso, transformación que se verifica siempre que la sangre es extraída de los vasos, a no ser que se adopten precauciones especiales, y a veces también en los mismos vasos *(trombosis* por coagulación) si éstos están alterados en sus paredes, si la corriente sanguínea se hace marcadamente lenta, o si está aumentada de una manera anormal la tendencia de la sangre a coagular. Sin embargo, normalmente la sangre debe permanecer flúida en los vasos, mientras que debe coagular si la continuidad del vaso queda interrumpida o si se pone en contacto con los tejidos, por ejemplo, con los labios de una herida. La coagulación de la sangre, forma de necrosis de esta clase de tejido líquido, es una verdadera medida de protección que el organismo sano pone en juego como remedio de urgencia a las soluciones de continuidad de las paredes vasculares. Si la sangre no tuviese esta providencial propiedad de coagular apenas se encuentra en contacto con algo distinto de las células endoteliales normales de los vasos, la más pequeña rotura vascular conduciría a una hemorragia incoercible y mortal : es lo que puede suceder en la *hemofilia*, insuficiencia (hereditaria) bien conocida de la coagulabilidód de la sangre, verdadera anomalía bioquímica que disminuye las probabilidades de existencia para el individuo que la sufre.

Podemos impedir artificialmente la coagulación de la sangre de varias maneras : recogiéndola con cánulas embadurnadas con aceite o vaselina en recipientes parafinados y mantenidos a la temperatura de 0° ; o bien añadiéndole, apenas extraída, una substancia anticoagulante, como la *hirudina* (extracto de cabezas de sanguijuelas), para lo cual se recogen 20 cc. de sangre en un recipiente donde haya 40-50 miligramos de hirudina. También se puede impedir la coagulación con soluciones salinas (y obtener el llamado plasma salado, si se centrifuga): así se puede mezclar una parte de sangre con una de solución saturada de sulfato de sosa ; tres partes de sangre y una de solución saturada de sulfato de magnesia, nueve partes de sangre y una de solución al 4 % de citrato sódico, nueve partes de sangre y una de oxalato potásico al 1 %, o nueve partes de sangre y una de solución al 3 % de fluoruro sódico. También se puede obtener sangre incoagulable por la inyección *in vivo* de la hirudina o de peptona ; la acción anticoagulante, de la peptona que *sólo se manifiesta in vivo*, es un fenómeno interesante sobre el que insistiremos. Digamos, por ahora, que para tener sangre incoagulable (de perro) es necesario preparar una solución al 3-5 % de peptona *Witte* en solución fisiológica, e inocularla en las venas a un animal en ayunas desde 12-24 horas antes, en la proporción de unos 10 cc. por cada kilogramo de peso ; inmediatamente después se practica la sangría.

Del plasma obtenido de la sangre cuya coagulación se ha evitado por uno de estos procedimientos (que frecuentemente es un poco rosado por ligera hemolisis) puede obtenerse el fibrinógeno : si el plasma

obtenido con sulfato sódico o magnésico, por ejemplo, se mezcla con partes iguales de solución saturada de NaCl, se separa un precipitado (fibrinógeno) que se recoge sobre un filtro, se lava con solución semisaturada de NaCl, se redisuelve en agua (existe siempre la cantidad necesaria y suficiente de sales para disolverlo) y se reprecipita con solución saturada o semisaturada de NaCl. Del plasma oxalatado se puede también obtener el fibrinógeno por adición de partes iguales de solución saturada de NaCl, pero mejor con solución de sulfato amónico a $^1/_4$ de saturación (por ejemplo : 20 cc. de plasma oxalatado + 40 cc. de agua + 20 cc. de solución saturada de sulfato de NH_4): se acostumbra a recoger sobre un filtro, se lava con sulfato amónico a $^1/_4$ de saturación, se redisuelve y se reprecipita. La solución que es estable en presencia de pequeñas cantidades de sales (punto de coagulación térmica : 56°) se conserva bien y puede servir para investigaciones sobre la coagulación.

Sin detenernos en detalles históricos, diremos que la esencia de la transformación del fibrinógeno en fibrina ha sido considerada durante mucho tiempo como un proceso de desdoblamiento : el fibrinógeno se desdoblaría en *fibringlobulina*, soluble, y *fibrina*, que precipita, pero actualmente no se admite ya esta escisión. La fibrina tiene la misma composición centesimal que el fibrinógeno, y parece, como dice Hekma (1), que no es más que el gel del fibrinógeno, mientras éste sería un sol de la fibrina (precisamente de la fibrina combinada con álcalis); la formación de la fibrina sería, pues, un proceso de gelificación irreversible y, por lo tanto, una modificación esencialmente física, que afecta al estado de dispersión proteica.

¿Cómo se verifica la formación de la fibrina? La teoría clásica, derivada de los trabajos de A. Schmidt y ampliada por Guld y Spiro (2) y por Morawitz (3) a quien se debe la terminología necesaria, es que la coagulación puede reducirse a un proceso enzimático : apenas la sangre sale de los vasos se formaría un fermento, la *trombina*, a expensas de un profermento, *protrombina*, ya presente en la sangre, y la trombina obraría sobre el fibrinógeno para transformarlo en fibrina. Pero el fermento, la trombina, no tendría nada de sencillo : el concepto de la protrombina ha sido descompuesto, por decirlo así, en varios factores : uno sería el *trombógeno* (Morawitz) o *serozima* (Guld y Spiro), un componente presente en el plasma circulante y de origen oscuro ; otro sería la *tromboquinasa* (Morawitz) o *trombozima* o *citozima* (Guld y Spiro) que se encontraría en los leucocitos, en las plaquetas y, en general, en muchos tejidos ; otro lo constituyen las sales de Ca, cuya importancia ha sido demostrada por el hecho de que las sales que, como los oxalatos y citratos alcalinos, precipitan el calcio son anticoagulantes, mientras que la sangre y el plasma oxalatado coagulan si se les añade un poco de sal soluble de Ca, por ejemplo $CaCl_2$.

(1) *Bioch. Zeitschr.*, vol. LXII, LXIII, LXIV, LXXIII, LXXIV, LXXVI.
(2) *Hofmeister's Beitr.*, vol. V.
(3) *Handb. d. Bioch.* de Oppenheimer, 1909.

Así, pues, según la teoría clásica (enzimática) tendremos que la trombina se forma en contacto de la sangre con los tejidos o con recipientes, porque el trombógeno se combina con la tromboquinasa (que es puesta en libertad por los leucocitos, los diversos tejidos y, sobre todo, las plaquetas, apenas la sangre sale de su lugar fisiológico y se pone en contacto con cuerpos que puede mojar, porque entonces se disgregan las células hemáticas y las plaquetas) y con las sales de Ca. He aquí la representación esquemática de este mecanismo :

Trombógeno o serozima.... + Tromboquinasa o citozima. + sales de calcio..... (trombina (o fibrino fermento) → que obra sobre el → Fibrinógeno, que se convierte en fibrina.

En los seres vivos la sangre no se coagularía normalmente gracias a la presencia de una substancia llamada *antitrombina*, que sería como un antifermento de la trombina y tendría un origen hepático. Podemos preparar soluciones de la llamada *trombina ;* ésta se encuentra en el suero que se separa espontáneamente en la coagulación, y se puede obtener precipitándola con alcohol : un volumen de suero o sangre desfibrinada se mezcla con 15-20 volúmenes de alcohol, se deja en reposo algunas semanas y se recoge el precipitado, que se lava con alcohol y se seca en un desecador : este material tiene una acción trombínica marcada, es decir, coagula el fibrinógeno obtenido como se ha dicho antes, o acelera la coagulación de un plasma salado y diluído con agua (las sales inhiben la acción de la trombina sobre el fibrinógeno). Extrayendo la fibrina con solución al 8 % de NaCl se obtiene también una trombina utilizable para las experiencias. Esta teoría aclara y encuadra muy bien muchos hechos : así pone en evidencia la importancia (demostrada por Bizzozzero) de las plaquetas en la coagulación como centro de producción de la tromboquinasa y, por la misma razón, la importancia del contacto de la sangre con los tejidos más o menos ricos en tromboquinasa. En la sangre de las aves se ha demostrado de un modo particularmente claro el valor de un elemento originado por los tejidos : esta sangre coagula menos fácilmente que la de los mamíferos cuando se recoge evitando el contacto con los labios de la herida ; en efecto, no contiene plaquetas y sólo puede obtener la cantidad necesaria de tromboquinasa a expensas de los tejidos. Basta añadir una pequeñísima cantidad de jugo de músculo o de otro tejido para que la coagulación se verifique con prontitud, ya que entonces se encuentra la tromboquinasa celular con el trombógeno y las sales de Ca del plasma. Bordet y Delauge (1) consideran que la citozima (tromboquinasa de Morawitz) es un lipoide, quizá una lecitina; sería *termoestábil* (una suspensión en solución fisiológica de plaquetas obtenidas por centrifugación fraccionada, conserva, después de calentada a 55°, el poder de acelerar la coagulación del fibrinógeno por un

1) *Ann, inst. Pasteur*, mayo 1913.

suero y, por lo tanto, de activar el trombógeno del suero) y *extraible por el alcohol*.

Pero otra concepción, o mejor dicho, un conjunto de concepciones enteramente fundadas en la Química-física coloidal, se oponen actualmente a la teoría enzimática que acabamos de exponer. Nolf (1) cree que en la coagulación se trata esencialmente de una precipitación recíproca de coloides : el agente plasmático (trombógeno), el de los elementos morfológicos (tromboquinasa) y el fibrinógeno se precipitarían recíprocamente, constituyendo la fibrina que, por lo tanto, contendría todos estos cuerpos y poseería una composición distinta según las condiciones de la precipitación. Las sales de Ca servirían esencialmente como electrólito coadyuvante de la floculación. La coagulación sería debida a la ruptura de un equilibrio entre los tres coloides citados, y se produciría a consecuencia de todas las influencias que modificasen el estado de las superficies coloidales activas (de donde la importancia de los materiales inertes, por ejemplo las simples paredes del vaso, que la teoría enzimática explica un poco artificialmente por lesiones de las células y de las plaquetas), No sería, pues, ningún fenómeno enzimático.

Muchos autores han puesto en duda la esencia enzimática del fenómeno : en efecto, no existe una temperatura óptima precisa, como sucede con todas las enzimas, aun cuando ciertamente la temperatura de unos 40° sea la más favorable; además, a muchos les parece extraña la existencia de una enzima que modifique el fibrinógeno de una manera puramente física, gelificándolo, si se admite, con Hekma (2) que no existen transformaciones químicas verdaderas y propias en la génesis de la fibrina. Igualmente, los trabajos más recientes de Funk (3), Stuber y Funk, Stuber y Sano (4) so son favorables a la intervención de fermentos : una solución de fibrinógeno es coagulada por otra de trombina hasta separándolas por una membrana semipermeable, seguramente incapaz de permitir el paso de una enzima. Estos autores creen que se trata de fenómenos de imbibición y desimbibición recíproca entre coloides, y precisamente de una desimbibición del fibrinógeno por efecto de un material ávido de agua y, por lo tanto, fácil de inhibirse, como es la trombina, el pretendido fermento (en efecto, los preparados usuales de « trombina » contienen una proteína precipitada con alcohol y, por lo tanto, fuertemente deshidratada : véase más arriba).

Herzfeld y Klinger (5) incluyen el proceso de la coagulación de la sangre, en la teoría de que ya hemos hablado (Primera parte, Capítulo VII, *d)* : el fibrinógeno es mantenido en solución por los productos desintegrativos en combinación cloruro-sódica, que actúan

(1) *Ergebn. d. inn. Med. u. Kinderheilk.*, vol. X, 1912.
(2) Loc. citato.
(3) *Bioch. Zeitschr.*, vol. CXXIV.
(4) *Id.*, vol. CXXIII y siguientes.
(5) *Id.*, vol. LXVIII, LXXV, LXXXII.

como mediadores de solubilidad, y todo lo que separa estos productos de las partículas proteicas o que los transforma en combinaciones cálcicas menos solubles, hace precipitar el fibrinógeno. Estos autores consideran como fundamental el siguiente experimento : una solución estable de fibrinógeno coagula cuando se dializa con una solución de cloruro sódico, y esto sucedería precisamente por la separación de los mediadores de solubilidad, anteriormente adsorbidos sobre el fibrinógeno. Este hecho ha sido confirmado por Wöhlisch (1), el cual cree, sin embargo, que se trataría solamente de una acción de contacto de la membrana del dializador sobre el fibrinógeno, que ya tiene tendencia a la floculación espontánea. Sería excesivamente largo exponer todo el desarrollo de la teoría coloidal, tanto más cuanto que no existe una concepción unitaria : citemos solamente la tentativa ingeniosa de Stuber y Sano (2) para explicar la acción anticoagulante del oxalato potásico como un proceso de ionización del fibrinógeno, por el cual éste, igual como pasa con otras proteínas, perdería la coagulabilidad tanto por el alcohol como por la acción del calor. Añadamos también que se han hecho tentativas ingeniosas para imitar el proceso de coagulación de la sangre con modelos coloidales inorgánicos : Wiegner, Magasanik y Gersner (3) han comprobado muchas leyes de la coagulación de la sangre con un pentóxido de vanadio. La íntima relación entre la concentración de H-iones y la coagulación podría indicar también la intervención de fenómenos coloidales : probablemente (Stuber) muchos agentes activantes o inhibidores obran así porque modifican la reacción actual del medio que, según Stuber (4) y según Kugelmars (5), no debe apartarse mucho de un pH = 7. Notemos que según estos autores el pH se modifica durante el mismo proceso de coagulación.

En la clínica el proceso de coagulación ha sido estudiado desde diversos puntos de vista: advirtamos, sin embargo, que muchas observaciones, por ejemplo sobre las modificaciones de la velocidad de coagulación, fueron hechas con medios imperfectos y con poco sentido crítico, sin tener en cuenta los numerosísimos factores que perturban frecuentemente los resultados experimentales. Recientemente Heubner y Rona (6) y Wöhlisch (7) han indicado métodos para determinar la velocidad de coagulación, con los cuales se eliminan muchas causas de error y Wöhlisch y Pieritz (8) y Stephan (9) han propuesto métodos adecuados para determinar la acción activante de la coagulación (riqueza en trombina) de los sueros.

(1) *Klin. Woch.*, 1923, n.° 39.
(2) Loc. citato.
(3) *Kolloid. Zeitschr.*, vol. XXX, 1922.
(4) Loc. citato.
(5) *Compr. rend. Soc. d. Biol*, t. LXXXVII, 1922.
(6) *Bioch. Zeitschr.*, vol. CXXX.
(7-8) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXVII, 1922.
(9) *Münch. med. Woch.*, 1920, n.° 11.

También son interesantes por las aplicaciones y consideraciones que de ellos se derivan, los estudios sobre la acción anticoagulante de la peptona. Es bien sabido, especialmente desde los experimentos de SCHMIDT-MÜHLHEIM, de ALBERTONI y de FANO, que si se inyecta con cierta rapidez en las venas de un perro (de preferencia en ayunas), una fuerte dosis de peptona (0,30 gr. por kilogramo de animal) la sangre del perro se hace incoagulable durante algunas horas. Los trabajos fundamentales de FANO (1) han demostrado: 1.°, que la peptona tiene *in vitro* una acción mucho más escasa, necesitándose dosis relativamente enormes para impedir la coagulación de la sangre, lo que demuestra que en el fenómeno colabora la intervención del organismo vivo; 2.°, que, si al día siguiente del experimento efectuado como se ha dicho, se vuelve a inyectar peptona al perro, la sangre no se convierte en incoagulable; FANO ha comprobado, pues, la existencia de lo que él llama *inmunidad para la peptona;* 3.°, la sangre incoagulable extraída de un animal tratado por peptona, impide la coagulación de la sangre normal si se mezcla con ésta. FANO ha establecido una teoría, que él llama la *teoría del agotamiento*, según la cual la incoagulabilidad es debida a substancias anticoagulantes elaboradas por el organismo, que son consumidas inmediatamente después de una primera inyección de peptona, no quedando disponible ninguna cantidad de ellas al practicar una segunda inyección. NOLF ha demostrado después (2) que el hígado es el principal fabricante de la substancia anticoagulante que entra en la circulación como respuesta a la inyección de peptona, y además parece que los leucocitos también tienen alguna intervención en este acto defensivo.

La incoagulabilidad por la peptona se incluye actualmente en una ley general: muchos cuerpos proteicos y sus derivados (gelatina, peptona, sangre y sueros heterólogos o heterogeneizados, etc.) pueden, si son inyectados en las venas a pequeñas dosis determinar una fase de hipercoagulabilidad de la sangre (también la peptona produce hipercoagulabilidad a pequeñas dosis; tanto es así que NOLF la ha propuesto para la cura de la hemofilia, a dosis pequeñas, repetidas e inyectadas lentamente) a la que sigue una fase de incoagulabilidad. LUZZATTO (3) encuentra efectivamente que la misma gelatina, comúnmente empleada como hemostático, lo es si es inyectada a dosis moderadas y repetidas, pero las grandes dosis y las inyectadas con rapidez producen, aun en este caso, incoagulabilidad (por ejemplo: en un perro de 6 kg., 40 cc. de sol. de gelatina al 10 % en 30 segundos). Según varias investigaciones, especialmente de LUZZATTO y de su discípulo I. CARRA (4), el período de hipercoagulabilidad va acompañado de plaquetopenia y leucopenia, mientras que en el período de incoagulabilidad subsiguiente

(1) *Arch. f. Physiol.*, 1881.
(2) Véase *Coag. du s.* en el *Traité du sang*, de GILBERT y WEINBERG, Baillière, 1913.
(3-4) *Biochimica e terapia sperimentale*, año V, 1919.

se observa una leucocitosis más o menos intensa; estos autores relacionan las modificaciones de la coagulabilidad con las de la riqueza leucocitaria: la leuco-plaquetopenia sería causada por leuco y plaquetolisis a las que se debería el ingreso en la circulación de substancias coagulantes *(trombozima* de NOLF, producida por las células vasculares y sanguíneas): el organismo reaccionaría después con la producción más intensa de substancias anticoagulantes *(antitrombina)*, sobre todo por parte del hígado. Algunos, como PICK y SPIRO, han atribuído la incoagulabilidad por la peptona Witte no a los albuminoides de la peptona misma (las peptonas del comercio, así como la Witte, que va mejor para estas experiencias, son mezclas de varios cuerpos, albumosas en gran parte), sino a un principio especial, termoestábil y soluble en alcohol, llamado *peptozima*. También la inyección de sales metálicas y de metales coloidales produce una fase de hipercoagulabilidad, seguida de una coagulabilidad menor, con oscilaciones, aproximadamente paralelas, del número de leucocitos en la sangre periférica-véanse los trabajos de SABBATANI (1).

Si esta leucopenia transitoria producida por la peptona, proteínas heterólogas, metales coloidales, etc. y la plaquetopenia simultánea, son debidas a leucolisis y plaquetolisis más que a una distribución modificada de estos elementos morfológicos en el torrente circulatorio, con tendencia a la acumulación en la red vascular profunda, es una cuestión que actualmente no puede decidirse con seguridad.

Es cierto que en el shock anafiláctico (así como en la llamada *crisis hemoclásica* de WIDAL) al mismo tiempo que leucopenia y plaquetopenia, existe una profunda alteración de la coagulabilidad de la sangre (incoagulabilidad en el shock anafiláctico clásico, mientras que en su crisis hemoclásica WIDAL describe mejor una hipercoagulabilidad, con tendencia de la fibrina a licuarse en un segundo tiempo), pero la tendencia moderna es de explicar también en este caso la leuco- y plaquetopenia como consecuencia de una distribución alterada, a causa de fenómenos vasomotores.

Recordemos que actualmente existen en el comercio varios preparados consistentes en extractos apropiados de plaquetas *(Coagulen* de FONNIO) y de órganos *(Clauden*, preparado con pulmón; *Stagnin* preparado con bazo) que sirven, en inyección local, subcutánea o intravenosa, para activar la coagulación de la sangre y, por lo tanto, en la terapéutica de las diátesis hemorrágicas, heridas y hemorragias de todas clases: se trata de productos que contienen tromboquinasa. El suero o la sangre total también tienen naturalmente acción coagulante y hemostática.

Citemos, como anomalías claramente patológicas de la coagulación: el aumento de coagulabilidad observado en la policitemia rubra; el notado — que por otra parte es una verdadera compensación protectora — después de las pérdidas graves de sangre. La disminución

(1) *Arch. di Fisiol.*, 1904.

de la coagulabilidad, quizá por un defecto bioquímico de las plaquetas que son escasas en tromboquinasa, en la hemofilia, ya ha sido indicada; en esta enfermedad se nota que el número de plaquetas no está disminuído, sino más bien aumentado. En la sangre de los hemofílicos se encuentran cantidades normales de fibrinógeno y, según parece, de sales de Ca (1). Es de notar que en la grave anomalía de que tratamos no nos encontramos solamente con un defecto de la coagulabilidad de la sangre, sino además con una fragilidad anormal de la pared vascular. Estos hechos, fragilidad vascular y coagulación disminuída por reducirse la proporción de trombozima de la sangre, con o sin plaquetopenia, se encuentran frecuentemente asociados, hasta en varias otras diátesis hemorragias, aun cuando no sea aún bien claro el nexo que los une; incluso hay quien supone que se trata de dos hechos independientes. Existen *púrpuras*, llamadas *trombopénicas*, en las cuales el número de las plaquetas está anormalmente disminuído, aunque la riqueza en trombozima de la sangre es normal; en estas afecciones la pared vascular es frágil como en la hemofilia. Por otra parte hay púrpuras en las cuales la cantidad de plaquetas y trombozima es normal, y sólo la pared vascular presenta la alteración dicha.

Sin embargo, entre el número de plaquetas y la concentración de la trombina en la sangre existe siempre paralelismo: el tiempo de coagulación de la sangre *in vitro* puede ser normal y sin embargo existir (como en las formas trombopénicas, que sería mejor llamar plaquetopénicas) una diátesis hemorrágica. En estos casos la sangre coagula normalmente *in vitro*, porque están presentes todos los elementos necesarios, incluso la tromboquinasa, pero la falta de plaquetas que deben formar el trombo de *conglutinación* para cerrar el defecto vascular explica la tendencia a las hemorragias. Las plaquetas tienen, pues, importancia no tan sólo por ser centros de formación de tromboquinasa, en cuya función pueden sustituirlas las células de la sangre o de los tejidos, sino también porque toman parte directa, por un mecanismo aun oscuro, en la formación de los *trombos de plaquetas* o de *conglutinación* que, desde los clásicos trabajos de Eberth y Schimmelbusch sobre la trombosis, sabemos que son el primer efecto de cualquier lesión, por mínima que sea, de la pared vascular y la forma primitiva del trombo, al cual pueden añadirse verdaderos productos de coagulación *(fibrina)* y células hemáticas *(trombos rojos)*.

(1) Es muy difícil establecer el comportamiento de la coagulación de la sangre en la hemofilia: existe un enorme desacuerdo entre los autores; sólo parece comprobada (Sahli, *Deutsch. Arch. f. klin. Med.*, vol. XCIX) la mucho mayor lentitud de la coagulación comparada con el individuo sano. Hay quien admite la existencia de substancias anticoagulantes, pero no existen pruebas suficientes. Es muy probable que esté alterada la formación de la trombina, pero no su acción sobre el fibrinógeno y se cree, con Sahli, en una insuficiencia hereditaria de las células (plaquetas) para formar tromboquinasa. Se debería a Fonnio *(Zeitschr. f. klin. Medizin.*, vol. LXXXIX, 1920, último trabajo) la demostración de esta insuficiencia química de las plaquetas. Quizá la hemofilia no tiene siempre la misma patogenia: pudiera ser que existiesen varias formas de hemofilia, con distinto mecanismo genético. En un trabajo reciente Wöhlisch *(Zeitschr. f. d. ges. inner. Med.*, vol. XXXVI, 1923) confirma en parte los datos de Fonnio.

Se han descrito retardos de la coagulación de la sangre en la ictericia, en la uremia y en la enfermedad de Basedow. No se ha demostrado una influencia directa de los agentes hormónicos (la adrenalina actúa en sentido antihemorrágico porque es vaso-constrictora). En muchas anemias y leucemias hay también hipocoagulabilidad, pero estas formas representan el paso hacia aquellas en las cuales la coagulabilidad está no modificada por alteraciones del verdadero proceso de coagulación, sino por oscilaciones en más o en menos del material coagulable, el fibrinógeno. Se llaman *hiperinosis* los estados de aumento del fibrinógeno (muchas enfermedades infecciosas y febriles, especialmente pneumonia, poliartritis reumática aguda, etc.), e *hiponosis* los de disminución de esta proteína plasmática (anemias y caquexias varias, con estados hidrémicos más o menos acentuados; atrofia amarilla aguda del hígado; envenenamiento por el fósforo, por el cloroformo, etc.). Recientemente Rabe y Salomon (1) y Opitz y Frei (2) han descrito cuadros morbosos con diatesis hemorrágica y ausencia absoluta de fibrinógeno en el plasma.

El origen hepático principal del fibrinógeno, admitido por muchos, explicaría la hiponosis en las afecciones hepáticas agudas y, por lo tanto, la disminución de la coagulabilidad de la sangre por este factor especial. En muchos casos, como en las anemias y caquexias, intervienen varios agentes causales para explicar la escasa coagulabilidad: reducción del fibrinógeno, deficiencia de tromboquinasa, modificaciones de los factores anticoagulantes, etc.

e) Los gases de la sangre y los cambios respiratorios.

Los gases que interesan al fisiólogo y al médico son el *oxígeno* y el *anhídrido carbónico*. En la sangre se encuentra, además, nitrógeno disuelto, gas inerte, y también se hallan pequeñas cantidades de gases procedentes del intestino (hidrógeno, metano, etc.) no escasos en los herbívoros, en cuyo tubo digestivo se verifica ampliamente la fermentación metánica de la celulosa y otros procesos fermentativos.

En el pulmón se realiza el cambio de gases con el aire exterior: el O_2 es absorbido y el CO_2, producto de las combustiones intraorgánicas (cap. VIII) es eliminado. Los gases de origen intestinal son también eliminados.

Veamos ante todo cómo se encuentran los gases en la sangre.

El oxígeno y el nitrógeno son poco solubles en el agua: en efecto, su coeficiente de solubilidad, es decir la relación (constante para cada temperatura según la ley de Henry) entre el volumen del gas disuelto y el volumen del disolvente, es para el N de 0,017 y para el O_2 de 0,033. El CO_2 es mucho más soluble (coeficiente de solubilidad = 0,924, según Cantone) (3). Ahora bien, solamente la cantidad de N disuelto

(1) *Deutsch. Arch. f. klin. Med.*, vol. CXXXII.
(2) *Jahrb. f. Kinderheilk.*, 1921, fasc. 6.°.
(3) *Fisica sperimentale*, Nápoles, 1919.

en la sangre, igual para la sangre venosa que para la arterial, obedece a la ley de HENRY y corresponde con su coeficiente de solubilidad en el agua pura; para la sangre expuesta al aire libre (en el que se encuentran $^4/_5$ de N en volumen y, por lo tanto, el N tiene una presión de $^4/_5$ de atmósfera = $^4/_5$ 750 mm. de Hg) se puede calcular que es aproximadamente de 1,5 cc. por 100 cc. de sangre.

Los otros dos gases, el oxígeno y el anhídrico carbónico, no están solamente *disueltos físicamente* sino también *químicamente combinados* y, por lo tanto, se comprende que las cantidades contenidas en la sangre no correspondan con las que deberían existir según la ley de HENRY (las masas de gas disueltas en un líquido son proporcionales a la presión parcial del mismo gas en la atmósfera que lo contiene) sino que, especialmente para el oxígeno, son notablemente superiores.

He aquí las cantidades de cada uno de los gases contenidos en la sangre (las cifras indican los centímetros cúbicos de gas, medidos a temperatura y presión *normal* de 0° y 760 mm. de Hg, que pueden extraerse de 100 cc. de sangre):

	Sangre arterial	*Sangre venosa*
Oxígeno	20 cc. %	8-12 cc. %
Anhídrido carbónico.....	40 cc. %	46-50 cc. %

Los valores del O_2 son un poco más bajos en las aves y los herbívoros. Los valores de la sangre venosa varían más que los de la arterial, observándose diferencias según las diversas regiones del cuerpo, estado circulatorio, etc. En los casos de asfixia pueden encontrarse hasta 70 volúmenes por 100 de CO_2 y menos de 2 % de O_2.

La *cantidad* de los gases contenidos en la sangre se determina del siguiente modo: ante todo se extraen mediante la bomba de vacío y calentando simultáneamente, según el método de BARCROFT (1); luego se procede a medirlos por separado, absorbiendo el CO_2 por medio de la potasa y el O_2 con solución alcalina de pirogalol, en el aparato de HALDANE (2). Para la determinación del O_2 únicamente, como casi todo éste está combinado lábilmente con la hemoglobina y esta porción (es decir el oxígeno de la oxihemoglobina) es precisamente la que queremos medir, se emplea frecuentemente por los fisiólogos el método de HALDANE por el ferricianuro de potasio. En efecto, al reaccionar el ferricianuro de potasio con la hemoglobina, desaloja todo el oxígeno combinado lábilmente y forma metahemoglobina (pág. 153). Esta determinación puede hacerse siguiendo el método primitivo del mismo HALDANE (3), o también según el primer procedimiento de BARCROFT (4) u otro posterior del mismo con el lamado aparato diferencial (1): se trata de medir exactamente el volumen de oxígeno que la sangre lacada con amoníaco (que sirve también para fijar el CO_2 e impedir que se mezcle con el O_2, alterando el resultado) desprende por la acción del ferricianuro. También puede determinarse aparte el CO_2 provocando su desprendimiento con ácido tartárico *después* de haber liberado el oxígeno, y puede recurrirse al aparato primitivo de HALDANE, ya citado (2).

(1) *Journ. of Physiol.*, vol. XXXIX, pág. 433.
(2) Descrito en PLIMMER, *Organ. a. Biochem.*, Longmans, Londres, 1926, página 493.
(3) *Journ. of Physiol.*, vol. XXV.
(4) *Id.*, vol. XLII.

Pero actualmente existen métodos clínicos más rápidos y perfeccionados, y el análisis de los gases de la sangre empieza a introducirse en la clínica, precisamente a consecuencia de algunas felices simplificaciones e innovaciones. Ante todo se puede extraer sangre arterial del hombre sin peligro, según HÜRTER (3), STADIE (4), y especialmente según las indicaciones recientes de EPPINGER y SCHILLER (5). La sangre arterial o venosa es recogida en recipientes que contienen un poco de oxalato sódico seco y bajo aceite de parafina, evitando todo contacto con el aire. PETERS, BARR y RULE recogen simultáneamente sangre arterial y venosa bajo parafina líquida (6). Después puede practicarse el análisis de los gases siguiendo un procedimiento simplificado de HALDANE (7) que se basa, como siempre, en el empleo del ferricianuro para desprender el O_2 y del ácido tartárico para desprender el CO_2 (8). Para la determinación aislada del CO_2 puede procederse según v. SLYKE (9) o según Y. HENDERSON y MORRIS (10) quienes han ideado un aparato gasométrico, cómodo, que puede aplicarse también a determinaciones del CO_2 en el aire expirado, en el aire alveolar, etc. (11).

Con estos métodos antiguos y modernos, se consigue demostrar que 100 cc. de sangre, batidos al aire a 15°, fijan unos 24 cc. de O_2 mientras que 100 cc. de agua no disolverían más que 0,7 cc. de este gas: he aquí una prueba bien clara de que gran parte de este gas debe ingresar en la sangre en forma de combinación química o de complejo físico-químico, que a su vez debe ser fácilmente disociable, porque

(1) *Id.*, vol. XLV y sobre todo : BARCROFT, *Respiratory function of the blood.* Cambridge, 1914; además, véase también : PLIMMER, op. cit., pág. 491.
(2) *Journ. of Physiol.*, vol. XXV.
(3) *Deutsch. Arch. f. klin. Med.*, 1912.
(4) *Journ. of exper. Med.*, vol. XXX, pág. 215, 1919.
(5) *Wien. Arch. f. inn. Med.*, vol. II, pág. 581, 1921.
(6) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XLV, pág. 489, 1921.
(7) *Journ. of Pathol. a. Bacter.*, vol. XXIII, 1920.
(8) Véanse pequeñas modificaciones indicadas en KORNFELD, *Zeitschrift f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXXVIII, n.° 4-6, 1923.
(9) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XXX, pág. 347, 1917.
(10) *Id.*, vol. XXXI, pág. 217, 1917.
(11) Según estos últimos autores, 1 cc. de sangre, recogida bajo aceite mineral o en recipiente con un poco de oxalato seco, es tratada en un largo *tubo de difusión* primero con amoníaco diluído y después con ácido tartárico de manera que el CO_2 se desprenda y se difunda por la atmósfera del tubo ; este proceso es acelerado por un movimiento rápido de rotación de este tubo (fig. en la pág. 223 del trabajo citado). Después puede determinarse la cantidad de CO_2 contenida en el aire del tubo, como si se tratase de una mezcla gaseosa cualquiera, por medio de la absorción con potasa cáustica en una bureta especial que existe en el aparato bastante sencillo representado en la pág. 218 del citado trabajo.

vemos que, a medida que desciende la tensión, la sangre vuelve a ceder su oxígeno.

La *hemoglobina* de los hematíes es la substancia que fija lábil y reversiblemente el oxígeno en forma de *oxihemoglobina;* en las páginas 146 y 150 ya hemos expuesto las características de esta fijación. Cuanto más alta es la tensión parcial del O en la atmósfera que está en contacto con la hemoglobina, tanto mayor es la cantidad de Hb que se transforma en HbO_2; y si la tensión parcial del gas va descendiendo, cada vez se disocia más HbO_2 y se libera más O_2. Examinando la *curva de disociación* de la oxihemoglobina (fig. 5, pág. 151) se ve que la disminución de tensión del gas y la cantidad de HbO_2 que se disocia no son directamente proporcionales: en efecto, a una tensión del gas de 150 mm. de Hg (como en el aire exterior) la casi totalidad de la HbO_2 permanece intacta, y más del 95 % a la tensión de unos 100 cc. de Hg (la tensión del O_2 en los alveolos pulmonares oscila precisamente alrededor de 100 mm. de Hg; es, pues, menor que en el aire exterior, porque éste está mezclado y diluído con el aire del *espacio muerto* del aparato respiratorio). He aquí la cantidad de HbO_2 contenida en 100 p. de pigmento total, para distintas tensiones del O_2, según experimentos hechos con solución del pigmento hemático:

Tensión parcial de O_2	Cantidad de Hb combinada en forma de HbO_2 (por 100 de Hb total).
10	30
20	64,7
40	90,4
60	97,6
80	99,5
90	99,8
150	casi 100

En la sangre la proporción de HbO_2 es un poco menor: en efecto, la disociabilidad de la HbO_2 en el glóbulo es algo más elevada que en una solución de pigmento.

Hemos visto también en la parte I, la importancia de los electrólitos, de la reacción del medio y, por lo tanto, de la presencia del CO_2 y de otros factores. Si se reflexiona sobre la influencia de todos estos elementos modificadores, se ve que las relaciones entre el pigmento y el O_2 son tales que aseguran a la sangre una saturación casi completa de la hemoglobina con oxígeno a distintas presiones atmosféricas; hasta a las mayores alturas (en la montaña o en las ascensiones aeronáuticas), incluso cuando la tensión parcial del gas en la atmósfera desciende a la mitad de la normal (por ejemplo a 70 mm. de Hg) un 80 % del pigmento se encuentra siempre en forma de Hb en la sangre arterial, proporción que basta para asegurar el aprovisionamiento de O_2 a los tejidos.

Pero si la HbO_2 se forma en la red vascular del pulmón por el cambio de gases entre el aire alveolar y la sangre, el compuesto HbO_2 debe disociarse en la red vascular de los órganos cediendo O_2 a los tejidos.

En efecto, en los tejidos, donde el O es continuamente consumido con formación de CO_2 (*respiración interna, oxidaciones intraorgánicas,* véase cap. VIII), se encuentran las mejores condiciones para que se disocie la HbO_2; la tensión parcial del O_2 es mucho más baja y, por otra parte, el CO_2 facilita, por el mecanismo descrito en la página 151 la disociación de la HbO_2. Actualmente, con los métodos citados para extraer una muestra de sangre, hasta es posible utilizar como dato semiológico el grado de saturación de la sangre arterial en O_2; así lo han hecho ADLERSBERG, KAUDERS y PORGES en afecciones congénitas del corazón, encontrando valores de 82-83 % en vez del 90-95 % normal (1).

Debemos añadir que todos los factores citados pueden modificar el poder de fijación de la Hb de la sangre y por eso tienen que atribuirse a éstos y no a diferencias de la naturaleza de la hemoglobina, los distintos poderes de fijación observados en varias especies zoológicas, en varios casos clínicos, etc. Así la sobrecarga de la sangre en CO_2, hasta en las arterias, tal como puede producirse por insuficiencia de los cambios gaseosos en el pulmón en casos de asistolia, afecciones del aparato respiratorio, etc., puede causar una reducción de la oxigenación de la sangre; de la misma manera puede actuar cualquier aumento eventual, aunque sea breve, de la concentración de iones H. Nótese que la HbO_2 es más ácida que la Hb; la Hb que es, pues, más básica fija mejor el CO_2 de los tejidos. La elevación de la temperatura es favorable a la disociación de la HbO_2; por lo tanto en la fiebre existen las mejores condiciones para una mayor provisión de O_2 a los tejidos, en particular si no intervienen causas que impidan por su cuenta los cambios de gases en los pulmones.

Podemos pasar ahora a tratar de la fijación del CO_2 en la sangre: ésta es debida en pequeña parte a la hemoglobina y por lo tanto a los glóbulos, pero el plasma tiene mucha mayor importancia. Cosa de un 5-8 % del CO_2 está físicamente disuelto en el plasma; el resto — o sea la mayor parte — está combinado químicamente, aunque en forma lábil y disociable, como lo demuestra el hecho de que disminuyendo la tensión parcial de este gas en la atmósfera que está en contacto con la sangre, cierta cantidad de CO_2 es eliminada poco a poco. En el aire alveolar el CO_2 tiene una tensión de unos 40 mm. de Hg (véase más abajo) que, siendo inferior a la de la sangre venosa que llega al pulmón por la arteria pulmonar, basta para producir la disociación de los compuestos en cuya forma circula el CO_2 en la sangre, por cuyo motivo se libera CO_2 hasta alcanzar un equilibrio aproximado entre las tensiones del CO_2 en el aire alveolar y en la sangre ya arterializada que vuelve al corazón por las venas pulmonares. La tensión del CO_2 en los tejidos es bastante más elevada; este gas vuelve allí a combinarse ampliamente con las substancias receptoras de la sangre, que luego veremos, y la sangre vuelve a convertirse en *venosa.*

(1) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXXVIII, fasc. 3.°-4.°, 1923.

El CO_2 se encuentra combinado en la sangre con los siguientes cuerpos:

1.° Los *carbonatos alcalinos* del plasma retienen el CO_2 formando bicarbonatos:

$$Na_2CO_3 + CO_2 + H_2O = 2NaHCO_3;$$

la reacción es ampliamente reversible, siguiendo la ley de las masas. Esta fijación se produce abundantemente aun para las tensiones débiles; el $NaHCO_3$ está en gran parte disociado y puede decirse que una buena parte (un 73,5 % según MICHAELIS) del CO_2 se encuentra en la sangre en forma de iones HCO_3;

2.° Los fosfatos disódicos reaccionan con el CO_2 para formar bicarbonato y fosfato monosódico, de esta manera:

$$Na_2HPO_4 + CO_2 + H_2O = NaHCO_3 + NaH_2PO_4;$$

3.° Las proteínas, especialmente las globulinas, en un medio ligeramente alcalino como es la sangre, actúan como ácidos, o sea disocian H y por lo tanto pueden constituir sales verdaderas y propias con los álcalis del plasma; podemos considerar como cierta la presencia de globulinatos de sodio, disociados en el anión gigante (Glob OH)′ y en el catión Na·. Pero el CO_2 puede substraer la base a esta sal formando bicarbonato sódico y liberando la globulina:

$$(Glob \cdot OH)Na + H_2O + CO_2 = NaHCO_3 + (H \cdot Glob \cdot OH)$$

y por acción consecutiva del CO_2.

$$(H \cdot Glob \cdot OH) + CO_2 = (Glob \cdot H)HCO_3;$$

con formación de un bicarbonato de globulina (catión proteico).

También la hemoglobina de carácter ácido, se encuentra unida a metales alcalinos (K) y puede ceder su propio álcali al CO_2 y, por lo tanto, tomar parte, por este mecanismo, en la fijación del CO_2: el carbonato potásico que resulta tiende a difundirse desde el glóbulo hacia el plasma, y esto contribuye a explicar la alcalinización del plasma que se observa cuando se hace pasar CO_2 por la sangre. En la página 376 ya hemos dicho que por la acción del CO_2 hay un cambio de aniones (Cl) entre los glóbulos y el plasma; ahora comprenderemos la complejidad de estos fenómenos que engranan de este modo con el mecanismo de fijación del CO_2. Si del glóbulo salen valencias básicas, y con el CO_2 y el Cl′ entran valencias ácidas, el glóbulo debe hincharse por la acción favorable que sobre la imbibición poseen los ácidos; en efecto: los glóbulos son un poco mayores en la sangre venosa que en la arterial.

4.° Las proteínas pueden obrar por otro mecanismo: formando compuestos carbamínicos por medio de sus grupos NH_2 libres, como

realmente ha demostrado SIEGFRIED para los aminoácidos en presencia de CO_2 y de sales de Ca. Si, por ejemplo, R es el núcleo proteico, tendremos:

$$R-\underset{\displaystyle COOH}{\overset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{\overset{|}{CH}}}} + H_2O + CO_2 = R-\underset{\displaystyle COOH}{\overset{\displaystyle NH-COOH}{\underset{|}{\overset{|}{CH}}}} + H_2O$$

Igual que en el caso precedente, este mecanismo de fijación del CO_2 no solamente puede aplicarse al plasma, sino también a los glóbulos; la Hb fija, pues, CO_2 a su *núcleo proteico* (carbohemoglobina) a diferencia del O_2 que se une al grupo prostético del cromoproteido.

En su lugar veremos que debe existir una relación constante entre el CO_2 simplemente disuelto (en forma de H_2CO_3), o sea en forma de ácido libre, y el CO_2 combinado con la gran reserva alcalina de la sangre, constituída esencialmente por el carbonato sódico (cap. VI, *b*).

Conocido el estado de los gases en la sangre, debemos extendernos algo más acerca de lo que se entiende por su tensión en la sangre: la *tensión* de cada gas en la *sangre* es la tensión que debería tener una atmósfera del mismo gas en contacto con la sangre para que el gas no pasase de la atmósfera a la sangre, o viceversa. La tensión se mide con los aerotonómetros, de varios tipos, por ejemplo el de KROGH, o (para el oxígeno) con el método indirecto por el CO, propuesto por HALDANE, y equivale a la presión externa del gas en cuestión para la cual no hay cambios de éste entre la sangre y la atmósfera. Ahora bien: conforme a las leyes físicas, los gases se dirigen siempre de los puntos de mayor a los de menor tensión, y los cambios pulmonares de gases entre la sangre y el aire, igual que los cambios internos entre la sangre y los tejidos, obedecen a esta ley fundamental.

En el *aire exterior* hay las siguientes cantidades de gases, con las presiones parciales correspondientes:

	Composición centesimal volumétrica	Tensiones parciales	
Vapor de agua	1,5 %	11,4	mm. Hg.
CO_2	0,03 »	0,22	» »
O_2	20,61 »	156,60	» »
N.	77,86 »	591,70	» »
		759,92	» » (o sea casi 760)

En los alvéolos, a causa de la dilución con el aire del «espacio muerto», no llega nunca aire con la composición del exterior. Tenemos para el aire alveolar:

	Composición centesimal volumétrica	
Vapor de agua	6,5 %	
CO_2	4,8 »	(hasta 5,6 % según SPECK).
O_2	16-15 »	(algo menos según SPECK: 14,6 % por término medio).
N.	80,2 »	

y, si calculamos las tensiones relativas, restando unos 46 mm. de Hg debidos al vapor de agua y lo que corresponde al gas inerte, el nitrógeno, encontraremos que el O_2 tiene una tensión de unos 100 mm. de Hg, y el CO_2 de unos 35 mm. de Hg.

Son éstas las tensiones que podríamos llamar eficaces: para el O_2 es mayor que la de la sangre que llega a los pulmones; para el CO_2 es, por el contrario, menor que la de la sangre del pulmón, por lo cual el CO_2 sale de la sangre en los alvéolos.

Los fisiólogos han discutido mucho si en el cambio de gases intervenían actividades vitales, secretoras, del epitelio respiratorio.

BOHR, especialmente, ha sostenido esta opinión, cuyo fundamento reside en la anatomía comparada; ciertos peces pueden *segregar* realmente O_2 en la vejiga natatoria, contra las leyes de la difusión gaseosa. Para que fuese así en el hombre, sería necesario demostrar que el gas en cuestión podía existir en la sangre arterial procedente del pulmón a tensión mayor de la que posee en el alvéolo pulmonar: en tal caso no podría admitirse la pura difusión, sino una fuerza activa que ha extraído O_2 del aire alveolar y lo ha llevado a la sangre.

¿Existen estas pruebas? No lo parece o, por lo menos, no son concluyentes, hasta tal punto que actualmente la teoría de la simple difusión ha conseguido la supremacía, aun cuando observadores como DOUGLAS y HALDANE (1) citen algún dato experimental favorable a una secreción activa de O_2 hacia la sangre en circunstancias especiales, por ejemplo en la fatiga, precisamente cuando el organismo necesita una provisión más rica de O_2 para los músculos que trabajan. Pero para este asunto debemos remitir a los tratados de Fisiología. De todos modos, la sangre arterial acostumbra a contener el O_2 a una tensión cercana a 80 mm. *un poco* inferior a la de este gas en el alvéolo, mientras que la venosa lo contiene a la presión *notablemente* inferior de unos 50-35 mm. de Hg. Para el CO_2 está comprobado un descenso de la tensión desde los tejidos a la sangre venosa, y de ésta al aire alveolar: la teoría de la difusión se confirma. Si consideramos la *cantidad* de CO_2 (aspirable después de acidificación) perdida por la sangre al pasar por el pulmón, es sólo de 8 cc. (a presión y temperatura normales) para 100 de sangre (en efecto, su concentración desciende de 48 a 40 %).

No podemos extendernos aquí acerca de la respiración externa; pero, por la importancia clínica que va tomando, debemos ocuparnos de la determinación del CO_2 y, por lo tanto, de la tensión parcial de este gas, en el aire alveolar.

No basta para ello analizar sencillamente el aire expirado, que tiene una composición variable, dependiente de varios factores (por término medio contiene 16,7 % de O_2 y 3,6 % de CO_2) y no corresponde al aire alveolar que interviene en los cambios gaseosos, sino al aire alveolar (unos 2500 cc.) mezclado con el aire del espacio muerto (160 cc.).

(1) *Journ. of Physiol.*, vol. XLIV, 1912.

Se considera como aire alveolar al que se recoge con una expiración forzada después de una inspiración y expiración normales (se supone que la expiración normal expulsa el aire del espacio muerto), como se hace en el procedimiento de HALDANE y PRIESTLEY, o el que se obtiene respirando varias veces en un saco cerrado, de manera que se inspire repetidamente el aire previamente expirado, como en el procedimiento de PLESCH (1). El primero es el llamado aire alveolar *abierto*, que teóricamente debería dar la tensión alveolar del CO_2 tal como se encuentra en las porciones respiratorias del pulmón, equivalente a la tensión de este gas en la sangre arterial (por lo tanto, en la sangre que irriga el centro respiratorio, hecho que debe tenerse presente por lo que diremos en el cap. VI, *b*). El segundo, el obtenido según PLESCH y según PORGES (2), es el aire alveolar *cerrado*, es decir, el de los alvéolos que no respiran, y, como se comprende por el método que sirve para obtenerlo, da el valor de la tensión del CO_2 en la sangre venosa, es decir, en la sangre cargada de CO_2, que llega al pulmón por la arteria pulmonar. Según PORGES, este segundo método sería el más utilizable en la clínica; sin embargo, se han practicado muchas observaciones con el método precedente, debido a HALDANE y PRIESTLEY, entre ellas las ya citadas de KORNFELD y de muchos autores americanos. Una modificación excelente del método de HALDANE es la de Y. HENDERSON y MORRIS (3), quienes han propuesto un aparato especial y sencillo para recoger la última porción del aire expirado (aire suplementario) y un procedimiento para determinar el CO_2 suficientemente exacto y menos complicado que el clásico de HALDANE. Las cifras normales del CO_2 en el aire alveolar son, según el método de HALDANE, de 35-40 mm. de Hg; según el método de PLESCH, de unos 45 mm. de Hg (un poco más alta por las razones dichas).

En el capítulo VI, *b*), veremos el significado de las oscilaciones en más o en menos con relación al equilibrio ácido-básico de la sangre y con el estado de alcalosis o de acidosis.

El verdadero proceso respiratorio, la *respiración interna*, se lleva a cabo en los tejidos, y el propio pulmón respira y consume O_2 como todo órgano viviente. La misma sangre tiene (como se ha dicho en la pág. 377) una capacidad respiratoria modesta, debida a las células que aun poseen metabolismo activo, como los hematíes jóvenes y nucleados y los leucocitos.

Los métodos *microespirométricos* sirven para estudiar cómodamente el consumo de O_2 por los órganos y tejidos separados y sobrevivientes; pero de la esencia de las oxidaciones intraorgánicas ya nos ocuparemos en el capítulo VIII.

(1) *Berlin. klin. Woch.*, 1909.
(2) Véase revista resumen en : *Klin. Woch.*, 1924, n.° 6.
(3) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XXXI, 1917.

CAPÍTULO IV

Reacciones inmunitarias

a) Complemento.

Se presuponen en el lector las nociones fundamentales sobre la inmunidad. Aquí nos limitaremos a algunas breves consideraciones sobre ciertos puntos de verdadera química inmunitaria, de los cuales el primero es el referente a la naturaleza del complemento. El complemento, es decir, la aptitud de un plasma o de un suero para *activar* (en el sentido inmunitario) un anticuerpo del tipo de amboceptor (amboceptor hemolítico, bacteriolítico, etc.) se encuentra en los plasmas y sueros normales, aunque presenta oscilaciones (por ejemplo, reducción durante el embarazo, durante las enfermedades infecciosas, en el shock anafiláctico, etc.) que se describen en los tratados especiales (1).

Acerca de su naturaleza se han hecho muchas investigaciones y se han suscitado discusiones apasionadas. Desde los primeros tiempos de la inmunología Ehrlich lo ha considerado como un fermento o como algo semejante, y la escuela de Metschnikoff lo ha identificado con las *citasas*, fermentos leucocitarios capaces de digerir los materiales fagocitados. Su labilidad respecto a los ácidos, a los álcalis y a los agentes térmicos, y el que su actividad se desarrolla en condiciones óptimas a una temperatura determinada (37°) son ciertamente analogías con los fermentos; pero no es cierto que el complemento sea un agente de acción puramente catalítico, sino que parece que en realidad es consumido en muchas reacciones. De todos modos el decir que es un fermento y, si es así, un fermento de acción extremadamente compleja que necesita la cooperación de cofermentos y agentes sensibilizadores (amboceptores) para obrar sobre el substrato (hematíes, bacterias), no aclara mucho el problema esencial porque también es oscura la naturaleza de los fermentos. Liebermann y otros han

(1) Véase: Rondoni, en *Lustig, Malattie infettive*, Vallardi, 2.ª edic., vol. I.

sostenido la naturaleza lipoide del complemento y hasta este autor y varios colaboradores suyos (1) han intentado construir una especie de modelos artificiales de complemento, con suero inactivo y jabones, capaces de actuar hemolizando, en presencia de agentes ácidos que representarían el amboceptor. Acerca de esta cuestión, hoy descuidada quizá equivocadamente, véanse los trabajos de Rondoni (2), que tiene experimentos desfavorables a la validez del esquema de Liebermann sobre la acción del complemento.

Más recientemente Herzfeld y Klinger (Parte I, Cap. VII, *d*) suponen que el complemento está constituído por productos de desintegración proteica, capaces de adsorberse a varios antígenos, especialmente después que las superficies de éstos han sido preparadas por la precipitación de las globulinas vectoras de los anticuerpos: los productos de desintegración citados actuarían entonces como mediadores de solubilidad, provocando procesos de hidratación y de hidrólisis y, por lo tanto, la escisión del antígeno. Actualmente se sabe que el complemento debe ser algo muy complejo: comprendería una fracción globulínica y otra albumínica, inactivas separadamente y activas cuando están juntas, como lo demuestra la posibilidad de la *escisión* (por diálisis, ligera acidificación, etc., del suero) en dos segmentos: el llamado *segmento intermedio* (fracción unida a las globulinas), y el llamado *segmento terminal* (fracción unida a las albúminas), al cual quizá va unido un *tercer* segmento. Existen trabajos experimentales que comprueban que lo que llamamos complemento debe ser, más que un cuerpo bien definido, un sistema complejo de cuerpos existentes en el suero, un estado físico-químico especial de los coloides séricos, el efecto de la cooperación de varios factores, tales como una dispersión bien definida de las proteínas (Sachs y sus colaboradores), una cierta medida de la tensión superficial, de la concentración iónica o algo parecido. La inactivación de un suero, por ejemplo, por medio del calor (56°), va acompañada de descenso de la tensión superficial, elevación de la viscosidad, disminución de la dispersión de los coloides y, quizá, de descenso de la conductibilidad eléctrica (3). Parece, pues, que el complemento corresponde a un determinado estado físico-químico del sistema globulinas-albúminas-lipoides-sales del suero; por lo demás, las acciones enzimáticas verdaderas están unidas, como ya se ha dicho, a un determinado estado físico del medio y algunos, como Warburg, las atribuyen a la concentración, por adsorción, sobre superficies *(catálisis por adsorción)*.

b) Antígenos y anticuerpos.

En condiciones normales los sueros poseen las propiedades aglutinantes, hemolíticas, antitóxicas, etc., que han permitido hablar de

(1) *Zeitschr. f. Immunitätsforsch.*, vol. II.
(2) *Id.*, vol. IX.
(3) Hecht, *Zeitschr. f. Immunitätsforsch.*, vol. XXXVI.

la presencia de *anticuerpos normales*. Estas propiedades, exaltadas de una manera específica para una determinada substancia extraña introducida parenteralmente, se individualizan en los llamados *anticuerpos de inmunización*, *cuerpos inmunizantes* o sencillamente *anticuerpos*.

Las substancias extrañas (heterólogas) capaces, al penetrar por vía parenteral, de provocar en el organismo la formación de anticuerpos específicos, son los llamados *antígenos* y tienen generalmente una composición albuminoidea. Está comprobado que todas las proteínas, exceptuando ciertas histonas, las protaminas y la gelatina, pueden actuar como antígenos. Quizá también pueden hacerlo los productos más elevados de la desintegración proteica, como ciertas albumosas; pero es cierto que si las proteínas son desintegradas hasta la pérdida de la mayor parte de los caracteres coloidales, desaparecen las propiedades antigénicas : así, las peptonas no son antígenas. Los proteidos que pueden actuar como antígeno son aquellos cuyo componente proteico es antigénico ; así sucede, por ejemplo, con los núcleoproteidos de los tejidos (1), con los núcleoproteidos de las bacterias (2), pero no, según algunos, con la hemoglobina, cuyo componente proteico es una proteína no antigénica, una histona (3), mientras que según otros, y según los datos recientes de HIGASHI (4), también la hemoglobina tendría función antigénica (como precipitógeno), tanto que este autor propone, fundándose en este hecho, un método biológico de aplicación médico-legal. Para las propiedades antigénicas de la hemocianina, véase la Primera Parte.

Se ha discutido mucho el poder antigénico de los cuerpos *no proteicos* y especialmente de los *lipoides;* admitido ya por K. MEYER, por MUCH y algunos otros, ha sido negado por muchos. Actualmente existen en este campo nuevas e interesantes adquisiciones : así, el análisis inmunológico ha dado a conocer en los *antígenos heterogenéticos* de FORSSMAN unos componentes celulares bastante difundidos, que se encuentran, por ejemplo, en los órganos de los animales llamados de *tipo cobayo* (cobayo, caballo, etc.), de naturaleza seguramente lipoide, porque son alcoholsolubles y cuya función antígena es posible solamente en combinación con una proteína. En efecto, la inyección al conejo de papilla de órganos de cobayo provoca la formación en la sangre del conejo de hemolisinas activas para los hematíes de carnero *(hemolisinas heterogenéticas*, para distinguirlas de las isogenéticas, esto es, que se producen después del tratamiento con hematíes de carnero) ; los extractos *alcohólicos* de órganos de cobayo fijan in vitro las hemolisinas heterogenéticas, demostrando que contienen los grupos atómicos específicos

(1) WELLS, *Journ. of biol. Chem.*, vol. XXVIII.
(2) LUSTIG y GALEOTTI : véase LUSTIG en *Handb. d. pathog. Mikroorgan.* de KOLLE y WASSERMANN, 2.ª edición.
(3) SCHMIDT y BENNET, *Journ. of. infect. diseases*, vol. XXV, n.° 3.
(4) *Journ. of Bioch.*, vol. II, pág. 315, 1923.

que entran en juego en la reacción inmunitaria ; pero estos extractos alcohólicos no son capaces, por sí solos, inyectados al conejo, de producir las hemolisinas citadas, sino que las producen solamente cuando son inyectados mezclados con una proteína heteróloga para el conejo, por ejemplo, con un suero heterólogo (de cerdo o de caballo). La conclusión es que en los órganos de los animales tipo cobayo, hay un lipoide, soluble en alcohol, que es el que LANDSTEINER ha llamado un *antígeno incompleto* o *apteno*, el cual es capaz de excitar el organismo a producir anticuerpos específicos para él, sólo cuando es inyectado asociado con un antígeno verdadero y completo, como una proteína, que obra en cierto modo como vehículo o soporte de los grupos específicos del lipoide.

LANDSTEINER y sus discípulos (1) han desarrollado una serie de nuevas investigaciones acerca de estos *antígenos incompletos:* el lipoide de FORSSMAN es uno de ellos que se encuentra naturalmente, pero pueden prepararse otros artificialmente ; en efecto, continuando las investigaciones citadas en la página 111 (a propósito de la especificidad de las proteínas), LANDSTEINER ha introducido, generalmente por diazotación, varios cuerpos aromáticos en la molécula proteica, consiguiendo comunicar a ésta una nueva especificidad, analizable serológicamente, relacionada con el grupo aromático introducido. Este viene a constituir como un antígeno incompleto que, asociado a la proteína, es capaz de producir anticuerpos con una especificidad correspondiente al mismo cuerpo aromático de naturaleza química bien definida. El análisis serológico puede, en cierto modo, practicarse respecto a cuerpos no coloidales químicamente conocidos, los cuales, con la proteína vectora, constituyen una especie de nuevo antígeno *complejo*.

SACHS, con sus alumnos, ha demostrado también que hasta lipoides bien definidos, como la *lecitina* y la *colesterina* (2), pueden actuar como antígenos cuando son inyectados en mezcla con una proteína heteróloga. La mezcla debe hacerse in vitro, antes de la inyección ; no basta inyectar separadamente el lipoide y la proteína. Se consigue, pues, inyectando extractos alcohólicos de órganos o lipoides bien definidos, junto con un suero heterólogo (para el conejo parece muy apropiado el suero de cerdo) obtener anticuerpos que fijan el complemento, o precipitinas específicas para los extractos o para los lipoides bien definidos.

SACHS supone que la proteína actúa de *remolcador* para el lipoide, después de haber formado con éste, in vitro, un complexo lábil por adsorción : la proteina vehícula al lipoide sustrayéndolo, en cierto modo, al secuestro por parte de las proteínas plasmáticas del animal tratado y permitiéndole así llegar a los tejidos productores de anticuerpos.

La concepción del mecanismo gracias al cual la proteína obra condicionando la acción antigénica de los lipoides, no es idéntica según los

(1) *Journ. exper. Med.*, últimos años, resumidos en *Klin. Woch*, 1927, n.° 3
(2) *Bioch Zeitschr.*, vol. CLIX, 1925.

distintos autores : mientras que para LANDSTEINER, sirve para completar el antígeno incompleto lipoidal, para SACHS el lipoide parece ser, y por sí solo, un antígeno completo, y la proteína serviría solamente para sustraerlo a la acción envolvente y enmascaradora del plasma, que le impediría excitar la producción de anticuerpos. Según A. KLOPSTOCK (1), los lipoides tienen también poder anafiláctico.

Parece que también ciertos hidratos de carbono se comportan como los lipoides, actuando como antígenos incompletos, o sea que necesitan la función mediadora de las proteínas ; según experimentos de AVERY y HERDELBERGER, de AVERY y MORGAN (2), puede aislarse de varios gérmenes (pneumococo, bacilo de FRIEDLÄNDER, etc.), unos polisacáridos dotados de actividad óptica, exentos de poder antigénico en estado puro, pero capaces de fijar in vitro los anticuerpos de un suero inmune antibacteriano : estos cuerpos se comportarían, pues, como los antígenos de FORSSMAN.

En los antígenos tóxicos (toxinas) puede suceder que haya una diversidad entre el substrato verdaderamente tóxico y el substrato al que va unida la acción antigénica ; sólo es necesario que el segundo sea proteico y coloidal. En el fondo la idea de EHRLICH de que en las toxinas existe un grupo toxóforo y otro haptóforo, puede encontrar confirmación en hechos químicos bien comprobados. Son poco conocidos en el campo inmunológico los trabajos de FAUST sobre los venenos animales : este autor es conocido por haber demostrado con TALQUIST (3) que el veneno hemolizante y anemiante del *Bothriocephalus* (una tenia) está representado por el ácido oleico pero se trata de un veneno que no es un antígeno y que no posee los caracteres de una verdadera toxina. El mismo autor ha estudiado también cuidadosamente (4) los venenos de las serpientes, la *ofiotoxina* de la cobra y la *crotaloxina* de la serpiente de cascabel, comparándolos con el del *sapo (bufotalina)* y otros venenos animales, y ha comprobado que el efecto tóxico es producido por cuerpos no nitrogenados del tipo de las colesterinas y del ácido colálico, pero — y en particular los venenos de las serpientes — abundantemente hidroxilados, lo cual explicaría su gran actividad farmacológica. Serían, pues, venenos del tipo de las saponinas vegetales, tanto que FAUST los llama *sapotoxinas animales;* únicamente diferirían de las verdaderas saponinas por su insolubilidad en alcohol y por la ausencia de un grupo reductor que da a las saponinas el carácter de glucósidos. Estos venenos quizá tendrían origen en fenómenos de oxidación de la colesterina en el metabolismo intermedio de las serpientes y anfibios. Ahora bien : es un hecho que los venenos de las serpientes y de otros vertebrados (e incluso los venenos de las abejas y de los escorpiones) tienen caracteres de antígeno cuando

(1) *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, vol. XLVIII.
(2) *Journ. of. exper. Med.*, vol. 42, 1925.
(3) *Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol.*, vol. LVII.
(4) *Id.*, vol. LVI y LXIV.

son inoculados en estado nativo, mientras que no hay ni puede haber poder antigénico en los materiales purificados, similares a las colesterinas, preparados por FAUST. Esto demuestra que en las secreciones naturales, el grupo tóxico — la sapotoxina de estructura colesterínica, de FAUST — está unido a cuerpos albuminoideos complejos y netamente coloidales, y que la función antigénica pertenece a estos cuerpos accesorios y no tóxicos.

Se ha discutido mucho la acción activante que ciertos lipoides (lecitina) tienen respecto a los venenos de las serpientes (el más estudiado es el de la *cobra)*. Según las investigaciones fundamentales de KYES y SACHS, la lecitina obraría como un complemento respecto a un cuerpo de tipo de amboceptor contenido en el veneno de la cobra. El complejo : lecitina + amboceptor (hemolítico) del veneno de cobra constituiría un llamado *lecítido.* Pero esta concepción (para los detalles, véase los tratados de inmunología) está actualmente abandonada ; ya v. DUNGERN y COCA habían pensado que el veneno podía contener *lecitinasas,* esto es unos fermentos que descompondrían la lecitina, y que el agente hemolítico estaría representado por los productos de descomposición de este fosfátido, que, por lo tanto, no obraría como un complemento, sino como un substrato que sufriría la acción de los fermentos contenidos en aquella secreción animal.

Débese a DELEZENNE (1) la demostración precisa de que, tratando lecitina (de huevo) con venenos animales (de serpientes o de abejas), se separa un cuerpo fuertemente hemolítico, que no es más que *desoleolecitina,* es decir, lecitina privada de un radical graso no saturado (ácido oleico), que se ha llamado *lisocitina.* Tienen también gran interés las investigaciones de BELFANTI (2), el cual consiguió aislar de órganos animales normales (páncreas y glándulas salivales) una substancia intensamente hemo y leucolítica que tiene gran analogía con la lisocitina : por lo tanto, en los órganos existirían (aunque enmascaradas, inactivadas o combinadas) substancias tóxicas parecidas a las que se liberan de los fosfátidos por la acción de los venenos animales específicos.

El análisis químico de las toxinas bacterianas no ha llegado tan adelante; pero ha sido siempre una aspiración de los bacteriólogos preparar toxinas bacterianas que no ofreciesen la reacción de los cuerpos proteicos, y hay quien cree haberlo conseguido ; se repiten aquí las consideraciones y tentativas hechas a propósito de los fermentos. No es imposible que la acción tóxica de las toxinas bacterianas se deba a cuerpos relativamente sencillos, quizá del tipo de las aminas proteinógenas, que recibirían el carácter de antígenos por efecto de otros cuerpos más complejos, derivados albuminoideos superiores y hasta proteínas, con los que estarían unidos.

(1) *Compt. rend. Soc. de Biol.*, vol. LXX ; *Compt. rend. Acad. des Sciences.*, vol. CLII, CLIII, CLV.
(2) *Bollett. Ist. Sieroterap. Milanese,* agosto, 1924.

Es un hecho que en los caldos tóxicos usuales (difteria, tétanos, etc.) las toxinas se comportan como proteínas, pues precipitan con los agentes precipitantes de las proteínas, no son dializables y tienen una marcada sensibilidad al calor y a otros agentes capaces de alterar los coloides; pero puede suceder que el principio específicamente tóxico esté por decirlo así, enmascarado por los coloides que siempre le acompañan y siga sencillamente al destino de éstos en todas las manipulaciones dichas.

¿Qué son los anticuerpos que aparecen en los líquidos orgánicos por el tratamiento con los antígenos?

Parece que se deberían admitir varios centros de formación en muchos tejidos, quizá en todos, porque se ha visto que también aparecen en tejidos cultivados *in vitro;* actualmente se tiende a dar importancia al aparato retículo-endotelial (1), a la piel, etc. Pero a nosotros nos interesan principalmente las propiedades químicas de los anticuerpos, sobre las cuales sólo parece que empieza a hacerse alguna luz en estos últimos tiempos. Es cierto que en los líquidos orgánicos los anticuerpos están unidos a las proteínas, y en el suero, a las globulinas especialmente: las primeras investigaciones precisas en este sentido son las de Belfanti y Carbone (2).

El hecho de que en los sueros antitóxicos usuales, la antitoxina esté unida a las globulinas y especialmente a las pseudoglobulinas, es frecuentemente aprovechado en la actualidad para preparar materiales antitóxicos con fines curativos, aligerados del lastre proteico, excesivo, inútil y a menudo perjudicial, que es responsable de los fenómenos anafilácticos (enfermedad del suero): Gibson y Banzhaf (3), desde hace años, en América, y recientemente Ruppel (4) en Alemania, aconsejan preparados de antitoxina que contienen solamente las pseudoglobulinas, casi tan eficaces como el suero antitóxico integral.

Pero con esto no conseguimos reconocer la naturaleza química de las antitoxinas y, en general, de los anticuerpos: ¿son éstos idénticos a las mismas globulinas, que han adquirido precisamente en el proceso de inmunización un estado físico-químico especial y una afinidad electiva para los antígenos, o son cuerpos distintos, unidos solamente a las globulinas, las cuales obrarían como vectores y las arrastrarían consigo en los procesos de precipitación (con sulfato amónico, o con electroósmosis, como en el procedimiento de Ruppel)?

Existen argumentos modernos e interesantes en favor de esta última opinión: se ha conseguido preparar soluciones de anticuerpos que no contienen proteínas en cantidades apreciables, lo que demuestra, por lo tanto, que los anticuerpos no son proteínas. Este resultado se ha

(1) Siegmund, *Klin. Woch.*, 1922, n.° 52; Isaac y Bieling, *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXV, XXVI, XXVIII; Vannucci, *Sperimentale*, 1924, fasc. 1.° y 2.°
(2) *Arch. per le Scienze mediche*, vol. XXII, 1896.
(3) *Journ. biol. Chem.*, vol. 1-3.
(4) *Zeitschr. f. Hyg.*, vol. XCVII.

obtenido con un método derivado de las investigaciones de Hahn y Trommsdorf (1), de Landsteiner y Jagic (2), de Liebermann y Fenyvessy (3), y de Rondoni (4). Estos autores han demostrado la posibilidad de separar los anticuerpos ya fijados al correspondiente antígeno, con varios medios y especialmente con álcalis y ácidos diluídos, y recuperar así los anticuerpos. Los investigadores primeramente citados vieron que tratando bacterias aglutinadas por NaOH n/100 o con H_2SO_4 n/100, se separaban las aglutininas del cuerpo bacteriano y, centrifugando y separando el sedimento bacteriano, quedaban en solución las aglutininas. Liebermann y Fenyvessy han demostrado la posibilidad de separar los amboceptores hemolíticos de los hematíes por medio de los ácidos, y aducen este resultado en apoyo de la citada hipótesis de la naturaleza ácida de los amboceptores. Rondoni ha demostrado la abundante recuperación de amboceptores hemolíticos unidos a los hematíes por medio de concentraciones de álcalis que no implican ninguna alteración grave de los glóbulos rojos y, por lo tanto, la verdadera y segura reversibilidad de la unión entre receptores globulares y amboceptores. Estos autores no se habían preocupado, sin embargo, de proceder a la purificación de las soluciones de los anticuerpos obtenidos con estos métodos de fijación electiva sobre el antígeno y separación y recuperación subsiguientes. Kosakai (5) ha conseguido brillantemente este objetivo: ha mezclado un suero hemoaglutinante con hematíes, ha lavado bien los hematíes aglutinados y cargados de hemoaglutinina, los ha tratado con álcali en solución isotónica de sacarosa (algunas tentativas, hechas por Rondoni, de tratamiento con álcali en líquido azucarado en lugar de solución salina, no habían sido continuadas) (6) y ha obtenido así un extracto de aglutininas, que ha purificado por la diálisis y con éter. Huntoon (7) y varios autores japoneses (8) han confirmado y profundizado este fenómeno, encontrando que los electrólitos inhiben la separación de los anticuerpos (de donde la ventaja de Kosakai al trabajar con una solución azucarada), que es favorecida por una temperatura comprendida entre 37° y 50°, y consiguieron verdaderas soluciones de anticuerpos exentos de proteínas. Puede añadirse también que Furuhata ha obtenido un preparado que daba resultado negativo para todas las reacciones de las proteínas, excepto la de la ninhidrina, que era positiva) y sometida al Kjeldahl solamente acusaba 0,046-0,015 de N por 100. Es cierto también que los anticuerpos — o al menos algunos estudiados hasta ahora — *no son lipoides; son coloides* porque no *dializan* a través de las membranas animales muertas; son *bastante resistentes*

(1) *Münch. med. Woch.*, 1900.
(2) *Id.*, 1903.
(3) *Centr. f. Bakt. Orig.*, vol. XLVII, 1908.
(4) *Zeitschr. f. Immunitätsforsch.*, vol. VII, 1910.
(5) *Journ. of Immunol.*, vol. III, 1918.
(6) Véase pág. 536 del trabajo citado.
(7) *Journ. of Immunol.*, vol. VI, 1921.
(8) Véase resumen en Berger, *Klin. Woch.*, 1923, n.° 25 y 26.

a varios agentes, y es probable que sean *nitrogenados*, aun cuando no sea cierto que todo el N de los extractos pertenezca a los anticuerpos; son *abiuréticos; no contienen azufre*, y tienen tendencia a adherirse a los precipitados de ciertas fracciones proteicas (globulinas).

En el plasma y en el suero los anticuerpos forman parte probablemente del N residual, aun cuando por lo general sean arrastrados con los precipitados proteicos en el momento de la desalbuminación.

Se ha dicho ya que en las enfermedades infecciosas y en los procesos inmunitarios se observa frecuentemente un aumento de las globulinas; pero esto no prueba la naturaleza globulínica de los anticuerpos porque no hay un paralelismo perfecto entre la curva de los anticuerpos y las modificaciones de la relación $\frac{\text{globulinas}}{\text{albúminas}}$ (1).

Probablemente la gran multitud de anticuerpos descritos en la inmunología podrían ser unificados. Las distintas clases de anticuerpos no son, verosímilmente, más que manifestaciones distintas, según la modalidad experimental, de la acción de un solo anticuerpo o de pocos tipos fundamentales de anticuerpos.

La acción de los anticuerpos no parece consistir siempre en algo comparable con la de los fermentos, ni sabemos bien qué relaciones existen con la de los llamados fermentos defensivos. En el caso de las precipitinas, según los trabajos interferométricos de Doerr y Berger, no se desarrollan fenómenos de desintegración a cargo de los antígenos; pero es evidente que la acción del anticuerpo y del complemento en la lisis bacteriana puede compararse con acierto a una digestión parenteral del cuerpo bacteriano.

El origen de los anticuerpos y, por lo tanto, la esencia íntima de las reacciones humorales de inmunidad no es bien conocida: la famosa *teoría de las cadenas laterales* de P. Ehrlich ha servido durante mucho tiempo y todavía sirve de hilo conductor en las investigaciones inmunitarias; encuadra bien muchos hechos conocidos y ha sido seguramente una de las concepciones biológicas más afortunadas e ingeniosas; pero hay que convenir que, en el fondo, no se aparta del terreno de las hipótesis cuando explica el origen de los anticuerpos por una especie de proceso secretorio celular, como una separación de receptores o constituyentes protoplasmáticos con afinidad electiva para el antígeno. Más recientemente Sahli (2) ha intentado explicar así el origen de los anticuerpos: en la sangre, y también en el protoplasma, existen normalmente grupos moleculares con afinidad para los antígenos más variados; entre estos *anticuerpos normales* de la sangre y las substancias análogas antigenófilas de las células existe un estado de equilibrio por el que, a una cierta concentración en la sangre, corresponde siempre una concentración determinada en los tejidos. Si llegan antígenos a la sangre, se combinarán con los anticuerpos normales que

(1) Urwitz y Meyer, *Journ. of exper. Med.*, vol. XXIV, noviembre, 1916.
(2) *Schweizer med. Woch.*, 1920.

en ella existen y se alterará el equilibrio; para restablecerlo será necesario que desde los tejidos se vierta al sistema circulatorio una cantidad de substancias antigenófilas igual a la que ha quedado en *déficit* en la sangre y, por lo tanto, ésta se enriquecerá, en aquel tipo determinado de anticuerpos. Esta teoría del clínico de Berna *(teoría por sustitución)* que algunos datos experimentales de Isaac y Bieling (1) parecen confirmar, traslada el primer asiento de la reacción entre los antígenos y anticuerpos desde los tejidos (donde la situaba Ehrlich) a la sangre. Pero la teoría clásica de Ehrlich explica mejor la manera como, por medio de una especie de estímulo producido por el antígeno, las células fabrican una cantidad enorme de anticuerpos superior en exceso a la necesaria para neutralizar simplemente los antígenos introducidos. La teoría de Ehrlich reduce, efectivamente la inmunidad natural a factores celulares, ya que los anticuerpos derivan de los componentes celulares: el antígeno se fija sobre los grupos receptores específicos del protoplasma; la célula se encuentra como en defecto por esta ocupación de sus receptores y es estimulada para regenerarlos, llevando a cabo un acto exquisitamente útil, sujeto a todas las gradaciones y variantes individuales de los actos vitales, y entonces aparecen en la circulación, en forma de anticuerpos, los receptores hiperregenerados.

Otra idea hizo su aparición desde los primeros pasos de la moderna ciencia inmunitaria, por ejemplo en las primeras suposiciones de Buchner; actualmente ha tomado cuerpo en una doctrina no exenta de buenos argumentos, aunque no aceptada generalmente, pero que de todos modos — a pesar de ser susceptible de críticas — abre algunos horizontes a la investigación. Es ésta la idea de que los anticuerpos derivan de los antígenos, sostenida actualmente por Herzfeld y Klinger, quienes la relacionan con su teoría acerca de la constitución y solución de los proteínas (Parte I, Cap. VII, *d*).

Según estos autores, el antígeno proteico sufre en el organismo una especie de exfoliación de la molécula, por lo cual se liberan *discos elementales* o fragmentos de éstos, que conservan todavía la característica estructural y específica de la substancia heteróloga originaria. Estos productos desintegrativos elevados de las proteínas inyectadas como antígenos sufren la suerte de los productos desintegrativos de las proteínas corpóreas, es decir, son adsorbidos en la superficie de las partículas de las proteínas del plasma. De los diversos grados de dispersión de las proteínas del plasma, el intermedio que corresponde a las globulinas, sería el más apto para esta adsorción superficial de los derivados de desintegración del antígeno. Los anticuerpos no serían más que las proteínas plasmáticas, y especialmente las globulinas, cargadas de productos de desintegración (pero siempre específicos) del antígeno. Por lo tanto, los anticuerpos serían de origen endógeno por su parte no específica, esto es, por el substrato proteico, mientras que la parte

(1) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXVIII, pág. 180.

verdaderamente específica y característica derivaría de la demolición parcial del antígeno.

El punto más misterioso, todavía, de la inmunidad es la afinidad electiva entre los antígenos y los anticuerpos: en la teoría de EHRLICH se sienta como base de esta afinidad un concepto químico-estructural, ya que EHRLICH creía que los antígenos tenían grupos moleculares aptos para combinarse con otros grupos moleculares de los anticuerpos. La discusión se ha hecho luego muy viva entre los que sostienen esta concepción química, que hasta quieren reconocer para ella la validez de las leyes de las proporciones definidas y de las proporciones múltiples, y los partidarios de la concepción físico-química, que tienden a ver en la unión entre los antígenos y los anticuerpos un fenómeno de adsorción entre coloides. En la hipótesis de HERZFELD y KLINGER el anticuerpo tendría una afinidad con el antígeno, porque encontraría en éste partículas coloidales con estructura superficial semejante, ya que este anticuerpo está revestido, por decirlo así, de fragmentos aun específicos del antígeno, y entre derivados proteicos semejantes, igual como entre aminoácidos iguales, las valencias secundarias adquieren el valor máximo y tienen tendencia a la agregación, como entre moléculas iguales de una substancia que cristaliza.

Dejando aparte la teoría de HERZFELD y KLINGER, que tiene varios puntos débiles, como la ya indicada y no explicada desproporción cuantitativa entre los anticuerpos producidos y el antígeno empleado y, sobre todo, la ausencia de experimentos positivos, diremos únicamente que, desvanecido un poco el entusiasmo por la Química-física coloidal que había conducido a la opinión precipitada de que la teoría de EHRLICH había sido superada, actualmente se tiene más en cuenta el alcance de las leyes de la Química y de la Química-física en los fenómenos complejos de la inmunidad y, especialmente, en los de la reacción entre antígeno y anticuerpos. Tomando como ejemplo más sencillo la aglutinación, vemos que es cierto que las aglutininas se unen a los cuerpos bacterianos siguiendo las leyes de la adsorción; los conocidos estudios de EISENBERG y VOLK han demostrado que las bacterias fijan una cantidad proporcionalmente mayor de aglutininas en una solución poco concentrada que en otra más concentrada, lo cual corresponde exactamente a lo que se ha visto (Parte I, cap. III) en los fenómenos de adsorción; se ha podido calcular la fórmula de la curva de fijación de las aglutininas y se ha visto que corresponde exactamente a la de FREUNDLICH para los fenómenos de adsorción. Mientras que la suspensión bacteriana, antes de fijar los anticuerpos, se comportaba igual como un coloide emulsoide y no era floculada por los electrólitos a concentración baja, después de la fijación de las aglutininas aquella suspensión está como desnaturalizada, ha adquirido el carácter de una verdadera suspensión no protegida o de un suspensoide, y es sensibilísima a los electrólitos, hasta tal punto que bastan los de la solución fisiológica para floculara. El proceso de la aglutinación, después de los estudios de BORDET, BECHHOLD, NEISSER y FRIEDMANN, puede dividirse en dos fases:

1.ª fase: las bacterias en suspensión, que parecen como *protegidas* de la precipitación por un emulsoide y que tienen carga negativa (convergencia anódica en el campo eléctrico) por efecto de la cual se repelen mutuamente, fijan por un proceso de adsorción la aglutinina que hace cambiar su carácter: se descargan, desaparece toda apariencia de protección y se comportan como un verdadero suspensoide; hasta que no intervienen electrolitos (si, por ejemplo, se tratan las bacterias con suero aglutinante dializado y diluído con agua, en vez de diluirla en solución fisiológica de NaCl) no aparecen fenómenos visibles de aglutinación.

2.ª fase: en presencia de electrolitos se obtiene la floculación del suspensoide, el fenómeno visible de la aglutinación.

Así, pues, esta reacción inmunitaria y la especie de microprecipitación que altera el equilibrio del sistema coloidal y que se llama fijación del complemento, pueden reducirse en su esencia a fenómenos coloidales. Son también interesantes los esquemas o modelos artificiales con coloides bien definidos que reproducen las reacciones coloidales más típicas, como el de LANDSTEINER y IAGIC (1), que con ácido silícico coloidal y lecitina han reproducido perfectamente el esquema de un sistema hemolítico constituído por amboceptor y complemento, y el más reciente de DOERZ (2) que con sales de tierras raras ha aglutinado las bacterias, ajustándose este fenómeno a leyes semejantes a las observadas en la aglutinación por los sueros inmunes.

Hay un hecho que esta orientación coloidal *no* explica y que, como dice SCHADE (3), es probable que los conocimientos químico-físicos actuales no expliquen nunca: la *especificidad* de las reacciones inmunitarias, no absoluta, pero ciertamente característica si se compara con los citados modelos inorgánicos y artificiales. Entre las dos fases de la aglutinación, la fijación del anticuerpo y la aparición del cambio químico-físico, se intercala un proceso misterioso para el cual, dígase lo que se quiera, la concepción genial y puramente química de EHRLICH conserva todo su valor expositivo y aclaratorio, aunque no lo explica por completo: el de la especificidad de reacción entre los antígenos y los anticuerpos. Ya hemos dicho muchas veces que, incluso para los fenómenos de adsorción, actualmente se vuelve a dar importancia a la naturaleza química de las superficies adsorbentes y de los cuerpos adsorbidos, y es muy probable que en las reacciones inmunitarias verdaderas el proceso sea al principio puramente coloidal y se vea completado después por verdaderas reacciones químicas. Las investigaciones de LANDSTEINER y LAMPL (4), que ponen en evidencia que *la especifi-*

(1) *Münch. med. Woch.*, 1904, n.° 27.
(2) *Kolloidzeitschr.*, vol. XXVII, pág. 277, 1920.
(3) *Physikal. Chemie in d. inn. Med.*, 1923.
(4) *Bioch. Zeitschr.*, vol. LXXXVI.

cidad serológica está en relación con la estructura química, y que indican la posibilidad de preparar grupos antigénicos de constitución química bien definida, son un buen argumento para la teoría química de la inmunidad, que parecía dominada por las teorías puramente coloidales.

Para terminar este breve resumen de Bioquímica inmunitaria, recordaremos que cuando la reacción entre los antígenos y los anticuerpos se verifica en el mismo organismo y en determinadas condiciones, puede producir aquellas manifestaciones tan estudiadas que se conocen con el nombre de *anafilaxia*. Se ha sostenido una teoría química, según la cual el antígeno de reinyección sería desintegrado en el organismo que contiene los anticuerpos, por la acción de éstos y del complemento, liberando bruscamente productos intermediarios de escisión proteica, dotados de propiedades tóxicas (analogía entre el *shock anafiláctico* y los efectos de la inyección de peptona). Por el contrario, se ha propuesto una teoría física, según la cual la aparición brusca del cuadro morboso sería debida a un desequilibrio coloidal en el seno de los tejidos o en el plasma por efecto de la acción recíproca entre el antígeno y los anticuerpos. Unos dicen, como KOPACZEWSKI, que en el plasma se formaría un verdadero microprecipitado, como se forma *in vitro*, al cual se deberían las embolias vasculares, los trastornos circulatorios y la muerte; otros sostienen que la reacción que provoca la alteración del estado físico de los coloides orgánicos se desarrolla en tejidos sensibles, por ejemplo el nervioso y en el cual se encontrarían anticuerpos producidos por efecto de la inyección preparante, y a donde sería atraído el antígeno de la reinyección (1).

Relacionada con la cuestión de la anafilaxia está la del poder fuertemente tóxico que adquiere cualquier suero normal (de cobayo), hasta para los animales de la misma especie, cuando se ha tenido en contacto, *in vitro*, con substancias adsorbentes, como varios precipitados, bacterias, kaolín, agar, almidón, etc. FRIEDBERGER ha hablado de la formación de *anafilotoxina*. El fenómeno no es general para todos los sueros (2) y demuestra que algunos de ellos, por alteraciones de sus propiedades físicas, por ejemplo, modificaciones en la dispersión de sus proteínas, adquieren poder nocivo para el animal que los recibe en inyección endovenosa. La constitución químico-física de los líquidos orgánicos es quizá una especie de garantía contra procesos autolíticos (SACHS) o contra agentes nocivos exógenos (bacterias) y, como veremos mejor en el capítulo siguiente, está destinada a no experimentar oscilaciones amplias y bruscas so pena de graves trastornos para el organismo.

(1) Véase el libro: *Anafilassi*, editado por el Instituto Sieroterápico milanese y la monografía de DÖRR, en *Ergenb. d. Immunitätsforsch.* de Weichardt, 1922.
(2) RONDONI, *Sperimentale*, 1922; NEUWEILER, *Zeitschr. f. Immunitätsforsch.*, vol. XXXVIII, 1923.

c) REACCIÓN DE WASSERMANN.

Para los detalles y bibliografía acerca de la reacción de WASSERMANN debemos remitir a los tratados y monografías especiales (1); nosotros nos ocuparemos únicamente de algunos datos bioquímicos fundamentales.

La reacción de WASSERMANN consiste en la inactivación de las propiedades complementarias (hemolíticas) de un suero fresco (de cobayo) por efecto de una mezcla de extractos orgánicos especiales con sueros de luético. La mezcla de extractos particulares (véase más adelante), con el suero humano (previamente calentado durante media hora a 55°) y suero de cobayo es mantenida durante una hora a 37°, y después se le añade un sistema hemolítico (suero hemolítico de conejo anticarnero + glóbulos rojos lavados de carnero) para saber si la reacción de los extractos con el suero ha conducido o no a la absorción e inactivación del complemento de cobayo. Si esto ha sucedido, se dice que la reacción de WASSERMANN es positiva (hemolisis nula, inhibición de la hemolisis); por el contrario, si el complemento no fué absorbido por el sistema: extracto + suero del paciente, o sea si hay hemolisis, se dice que la reacción es negativa. La reacción de WASSERMANN consiste, por lo tanto, en determinar por medio de un reactivo biológico (hemolisis) si el suero del paciente posee la propiedad de reaccionar con ciertos extractos de órganos de manera que se forme un nuevo compuesto ávido del complemento, como se dice en el lenguaje inmunitario corriente; se sabe por pruebas empíricas, actualmente numerosísimas, que tal propiedad es carecterística de los sueros (calentados media hora a 55°) de luéticos (más en ciertos períodos que en otros), de enfermos afectos de otras espiroquetosis, de tripanosomiasis, quizá de otras enfermedades protozoarias diversamente diagnosticales y, de una manera, sin embargo fugaz, de los sujetos afectos de enfermedades exantemáticas agudas (escarlatina, tifus exantemático, etc.). También el líquido céfalo-raquídeo de los luéticos con lesiones específicas del sistema nervioso central tiene la propiedad de reaccionar con los extractos de órganos, constituyendo un complejo inactivador del complemento; puede dar, pues, una reacción de WASSERMANN positiva, y este hecho se emplea frecuentemente en clínica neuropatológica. Desde el punto de vista químico y químicofísico debemos preguntarnos de qué naturaleza es esta reacción, cuál es el elemento activo de los extractos de órganos y qué substancia o propiedad específica de los humores orgánicos de los luéticos es la que determina esta reacción con los extractos.

Extractos: no parece que sean antígenos en el sentido inmunitario, aun cuando los más adecuados para practicar la reacción fueran al

(1) Véase entre los más recientes: RONDONI, en LUSTIG, *Malattie infettive*, Vallardi, 2.ª edición.

principio extractos acuosos o alcohólicos de órganos luéticos. Actualmente se emplean casi siempre *extractos alcohólicos* de órganos y particularmente de hígado de feto heredo-sifilítico, o bien, con resultados casi iguales, de órganos normales de animales (corazón de cobayo, corazón de buey, etc.).

El hecho de que los extractos alcohólicos de órganos normales, incluso de animales, den buenos resultados (es decir, reacciones de WASSERMANN positivas con sueros luéticos y negativos con no luéticos, con las excepciones citadas) demuestra que el elemento activo de estos extractos no está precisamente formado por constituyentes específicos del espiroqueta de la sífilis o del organismo invadido por este agente infeccioso. Está demostrado que el principio activo de los extractos son los *lipoides;* tanto es así que se obtienen verdaderas reacciones de WASSERMANN, más o menos perfectas, con lipoides bien definidos (lecitina, oleato sódico, etc.) o, mejor aún (como en las investigaciones, ya anticuadas, de SACHS y RONDONI), con mezclas de lipoides (ácido oleico, lecitina y oleato sódico). En el resultado de la reacción interviene también el estado físico (de dispersión) de los lipoides contenidos en los extractos alcohólicos, que se emplean diluídos en solución fisiológica, y cuyo estado físico depende de la manera y del tiempo en que se hace la dilución, como SACHS y RONDONI demostraron años atrás (1).

Suero: algunos han hablado de *reaginas* luéticas para definir las substancias especiales activas del suero de sifilítico, capaces de reaccionar con los lipoides de los extractos y producir el complejo fijador del complemento, pero todavía no se conoce bien la esencia de los componentes específicos del suero luético, y hasta muchos suponen que no se puede siquiera hablar de componentes específicos de dicho suero, sino solamente de un estado físico particular de algunos componentes normales, gracias al cual se presentaría una tendencia particular a una reacción de naturaleza coloidal con los liopides y en especial con ciertas mezclas de lipoides en proporciones óptimas. Parece comprobado por investigaciones actualmente numerosas (2), que las globulinas de los sueros luéticos (y de los enfermos de las otras formas citadas; además, aunque en *grado menor*, quizá también en otras enfermedades), tienen una especie de *labilidad*, como si estuviese alterada la proporción de las distintas fracciones globulínicas a beneficio de las fracciones más lábiles (menos dispersas?) o estuviese modificado de algún modo su estado coloidal en el sentido de una mayor sensibilidad a los agentes floculantes: WEISBACH dice que las globulinas, por efecto del proceso luético, se han vuelto *Zustandfremd* (es decir, «extrañas a su estado») queriendo dar a entender con esta palabra que han adquirido una constitución químico-física particular, que las diferencia de las normales. Una parte, por lo menos, de la actividad de estos sueros va, pues,

(1) *Berl. klin. Woch.*, 1908, n.° 44.
(2) Véase la monografía reciente de WEISBACH, *Wassermannsche Reaktion*, Jena, Fischer, 1921.

unida a una modificación de las globulinas (1). Pero no se sabe si todo consiste en esto o si, además de la activación globulínica hay que tener en cuenta algún otro factor; la presencia de verdaderos cuerpos inmunitarios o amboceptores, admitida primitivamente por WASSERMANN y que en la actualidad vuelve a sostener con nuevos argumentos (2), no es aceptada generalmente. Las investigaciones de KOPACZEWKY (3) demostrarían en los sueros luéticos modificaciones de algunas constantes quimicofísicas (mayor tensión superficial, menor viscosidad) que hablarían en favor de modificaciones esencialmente coloidales de los sueros. Por otra parte, podría ser que además de las modificaciones coloidales existan, y quizá constituyan el elemento causal primitivo, algunas alteraciones propiamente químicas. SACHS, uno de los que mejor conocen la reacción de WASSERMANN (4) supone que podría existir una modificación de la cantidad de lipoides contenidos en los sueros luéticos, la cual originaría una alteración en los fenómenos químicos peculiares con los lipoides de los extractos. Las modificaciones globulínicas serían, entonces, secundarias y tendrían una especificidad menor, esto es, se presentarían en un mayor número de afecciones morbosas, y de aquí derivarían, fuera ya de la típica reacción de WASSERMANN, el grupo de las reacciones no específicas, unas veces incompletas y otras transitorias, que despistan al observador no experimentado y que aparecen todas las veces que hay un aumento de la labilidad de los proteicos plasmáticos y, especialmente, si se usan sueros no calentados (el calentamiento a 55° durante media hora estabiliza particularmente ciertas fracciones globulínicas, como las euglobulinas que, siendo más lábiles, perturban a veces la reacción de WASSERMANN). Algunos (5) han creído también que en los sueros luéticos existen productos de desintegración especiales, de naturaleza proteica o lipoide, procedentes del tejido alterado del parásito, que influirían en las alteraciones coloidales y, por lo tanto, en la capacidad particular de reaccionar con los extractos. Los trabajos y consideraciones de RONDONI (6) y de MARCIALIS (7) aclaran algo este punto y tienden a considerar que la esencia de la alteración sérica no se limita solamente a modificaciones pura y simplemente globulínicas, sino que la atribuyen a la presencia de constituyentes anormales, que quizá podrían incluirse en el grupo de los polipéptidos y relacionarse con los procesos histolíticos que seguramente se desarrollan en el organismo luético; así parece, según RONDONI, que el poder rotatorio de los sueros luéticos

(1) Véase también: SAHLMANN, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, vol. XXXIII, fasc. 2.° año 1921.
(2) *Berl. klin. Woch.*, 1921, n.° 9; *Klin. Woch.*, 1922, n.° 22.
(3) *Compt. rend. Soc. d. Biol.*, vol. LXXXII, 6 diciembre 1919.
(4) Véanse sus numerosos trabajos y los de sus discípulos en el *Zeitschr. für Immunitätsforsch.*, en la *Berl. klin. Woch.*, etc.
(5) Véase KAPSENBERG, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, vol. XXX, 1921.
(6) *Id.*, vol. XXXIV, 1922.
(7) *Arch. per le Scienze biol.*, vol. IV, n.° 3 y 4, 1923.

es generalmente más elevado que el de los sueros negativos a la reacción de WASSERMANN.

Recientísimamente ha vuelto a afirmarse la tendencia a ver en la r. de *W* una verdadera *reacción inmunitaria* entre *antígenos* y *anticuerpos*, precisamente en dos direcciones distintas.

Por una parte SACHS, A. KLOPSTOCK y WEIL (1) creen que entran en juego *autoanticuerpos* contra los lipoides de los órganos invadidos por el espiroquete y se apoyan en las recientes adquisiciones experimentales de LANDSTEINER y de SACHS mismo, acerca de la posibilidad: de que los lipoides, asociados con un antiguo proteico que actúa de remolcador, tengan acción antigénica. SACHS y sus colaboradores creen que en los órganos invadidos por los parásitos se ponen en libertad lipoides, los cuales llegarían a actuar como antígenos, asociados con proteínas heterólogas proporcionadas por el espiroquete, por lo cual se formarían autoanticuerpos contra los lipoides mismos y el suero de los luéticos daría la característica fijación del complemento con varios extractos alcohólicos de lipoides.

Según estos autores se consigue, en efecto, hacer aparecer en el conejo típicas r. de *W* inyectándoles mezclas de extractos alcohólicos de órganos de conejo con suero de cerdo; parece esto una especie de modelo experimental de la r. de *W*, en el cual el suero de cerdo representa el mediador proteico de la acción antigénica de los lipoides, o sea el remolcador que conduce los lipoides para actuar en el organismo en sentido inmunitario, de la misma manera que lo hacen las proteínas del espiroquete en la infección.

De este modo se asentaría en bases modernas la antigua concepción de WEIL y BRAUN que hace muchos años admitieron que esta seroreacción era debida a la formación de anticuerpos contra los constituyentes orgánicos liberados por el proceso morboso; los constituyentes orgánicos que actúan de antígeno serían lipoides desnaturalizados y puestos en condiciones de provocar la formación de anticuerpos en virtud de la combinación con una proteina heteróloga proporcionada por el parásito.

A esta teoría se le han hecho varias objeciones: en los conejos es difícil apreciar una r. de *W* positiva ya que con frecuencia el suero de estos animales da una reacción positiva sin ningún tratamiento de los animales; el mecanismo de acción del espiroquete, con liberación de lipoides, debería repetirse en otras enfermedades, en las cuales hay todavía una mayor destrucción de tejidos que en la sífilis.

La otra orientación inmunitaria no es más que la vuelta a la primitiva concepción de A. WASSERMANN: se trata de una producción de anticuerpos contra el parásito; el sólo hecho característico sería la *lipofilia* de estos anticuerpos que podrían reaccionar, in vitro, con extractos lipoidales variados y no específicos en el sentido inmunitario.

(1) *Deutsch. med. Woch.*, 1925, n.° 15.

LANDSTEINER (1) sostiene esta opinión, así como también F. KLOPSTOCK (2): parece que debe admitirse, en el espiroquete y en el tripanosoma, la presencia de complejos lipoproteicos que, en el fondo, actúan también siempre por el mecanismo de los antígenos complejos, formados por un lipoide mezclado in vitro con una proteína. Por lo tanto, podría así explicarse cómo se forman anticuerpos también contra el solo constituyente lipoideo y, por lo tanto, como los sueros inmunes reaccionan no sólo con el espiroquete o el tripanosoma íntegros, sino también con materiales lipoideos no específicos.

En efecto, mientras que según SACHS, el espiroquete proporcionaría sólo el constituyente proteico necesario para vehicular el antígeno lipoide originado en los órganos alterados, según estos otros investigadores (LANDSTEINER, etc.) el espiroquete daría el antígeno complejo íntegro, la proteína y el lipoide, y los anticuerpos serían verdadera y solamente antiespiroquéticos.

Parece que también otros gérmenes pueden producir antígenos complejos y, por lo tanto, dar origen a anticuerpos antilipoidales. Pero para la explicación de la r. de *W* no puedo dejar de admitir la existencia de materiales especiales propios de los sueros luéticos y de origen no inmunitario; las recientes investigaciones de TONIETTI (3) que encuentra un aumento del nitrógeno amínico en el suero luético, están en armonía con los datos polarimétricos citados por RONDONI que hacen presumir la presencia de productos anormales de escisión proteica.

La *reacción entre los extractos y los sueros luéticos* se desarrolla, por lo menos en sus líneas fundamentales, como un proceso de floculación de coloides, floculación, por decirlo así, *en estado naciente*, generalmente no visible a simple vista o al microscopio, pero demostrada por JACOBSTHAL desde hace varios años, y confirmada después por numerosas observaciones. Por medio de artificios especiales se ha conseguido hacer visible microscópicamente el precipitado; de aquí han nacido las *modernas reacciones de precipitación* del tipo de la reacción de MEINICKE, la de SACHS y GEORGI, la reacción de DOLD, etc., con sus varias modificaciones. En los primeros tiempos de los estudios sobre la reacción de WASSERMANN, ya se había notado que frecuentemente los sueros luéticos daban precipitados evidentes en contacto con suspensiones de lecitina, soluciones de sales biliares y hasta con agua destilada sola, indicio de una mayor labilidad globulínica. Pero estas reacciones de precipitación, simples y primitivas, ponían sólo en evidencia este factor genérico, eran poco específicas, ofrecían sólo un grosero paralelismo con la reacción de WASSERMANN, y no eran utilizables clínicamente; todo lo más han servido para demostrar la alteración globulínica ya citada y además para dar la razón a los que sostenían que esta alteración no era la única responsable de la reacción de WASSERMANN, porque

(1) *Klin. Woch.*, 1917, n.° 3.
(2) *Klin. Woch.*, 1927, n.° 15.
(3) Policlínico, Sez. prat., 1927.

es mucho más frecuente en Clínica, ya que incluso se observa en ciertos estados fisiológicos (embarazo) caracterizados también por labilidad plasmática en el sentido de SACHS y OETTINGEN (pág. 488). En cambio, en estas *nuevas reacciones de precipitación*, tipo MEINICKE, SACHS y GEORGI, etc., se aprovecha *también* el factor causal verdadero, sea o no esclusivamente globulínico-coloidal, de la reacción de WASSERMANN, y no se hace más que convertir en macroscópica la microprecipitación que se produce en la reacción clásica; así se obtiene aproximadamente la misma especificidad relativa de la reacción de WASSERMANN, un paralelismo claro (no perfecto) con ella y casi se puede sustituir ésta por las citadas reacciones. La demostración de la floculación se obtiene por varios medios, recurriendo a extractos particularmente sensibles (por ejemplo, añadiendo colesterina; según SACHS, que emplea un extracto alcohólico de corazón de buey colesterinado, incluso para el WASSERMANN, la colesterina hace inestables los lipoides de los extractos, es decir, que los convierte en más capaces de reaccionar con los sueros), usando extractos hechos con precauciones y materiales especiales o modificando oportunamente la riqueza salina (NaCl) de las mezclas de manera que los copos que se formen se mantengan con mayor estabilidad. No pudiendo entrar en modalidades técnicas, basta afirmar que estas modernas reacciones de precipitación son en el fondo reacciones químico-coloidales, no específicas en el sentido inmunitario, no debidas a acción recíproca entre antígenos y anticuerpos, sino tan sólo específicas clínicamente (y aun no del todo), igual que la reacción de WASSERMANN de la que derivan, y de la cual no son más que una ampliación simplificadora.

Su estudio sirve perfectamente para el conocimiento del mecanismo genético de la WASSERMANN. En efecto, se han analizado químicamente los copos resultantes de la reacción entre extractos y suero en estas distintas formas de precipitación: SCHEER (1), NIEDERHOFF (2), EPSTEIN y PAUL (3), habrían encontrado que dichos copos están formados exclusivamente por lipoides de los extractos: SACHS y SALHMANN (4), por el contrario, han demostrado la presencia en ellos de componenetes globulínicos del suero. Así es que deberemos admitir que en estas reacciones biológicas (reacción de WASSERMANN y sus derivados) hay una floculación de los lipoides del extracto y de las globulinas del suero, con probabilidades de que éstas se reúnan constituyendo una capa envolvente alrededor de las partículas lipoides. Esta formación de una nueva superficie, la aparición de este microprecipitado invisible, es el que determina, en el dispositivo clásico según WASSERMANN, la inactivación del suero de cobayo, es decir, la desaparición del complemento de éste. El complemento desaparece siguiendo unas leyes que recuerdan las de un

(1) *Münchn. med. Woch.*, 1921, n.° 2.
(2) *Arb. a. d. Inst. f. exper. Therap. Frankfurt a. M.*, Jena, Fischer, fasc. 12, 1921.
(3) *Arch. v. Hyg.*, vol. XC, 1921.
(4) *Deutsche med. Woch.*, 1921, n.° 37.

proceso de adsorción; sabemos, en efecto, que muchas substancias de gran superficie, suspensoides, etc., adsorben el complemento, o sea que modifican el estado físico-químico del suero fresco cuya actividad particular conocemos con el nombre de complemento.

La Química y la Química física no han podido hasta ahora llegar más adelante en el análisis de estas importantísimas reacciones biológicas. La riqueza absoluta de los sueros luéticos en proteínas, colesterina, etc., no parece modificada relativamente a la normal; algunos encontrarían un aumento de los aminoácidos (1); otros han dedicado recientemente su atención a los componentes inorgánicos, como PIETRAVALLE (2) que encontraría aumentado el Ca en los sueros luéticos, y funda en ello una explicación del mecanismo genético de la WASSERMANN.

(1) Véase bibliografía en el citado trabajo de MARCIALIS.
(2) *Annali d'Igiene*, XXXII, 1922.

CAPÍTULO V

Proteinoterapia

Es ésta una cuestión que no podemos hacer más que bosquejar, remitiendo, para mayores detalles, a las obras recientes sobre esta materia (1).

El principio fundamental de la proteinoterapia o coloidoterapia es bastante antiguo; la idea de inyectar substancias más o menos extrañas al organismo para provocar en éste una reacción aprovechable terapéuticamente, y especialmente una reacción *hemato-febril* (fiebre, leucocitosis) se remonta a las antiguas tentativas de curación de la tuberculosis con inyecciones de cinamato sódico, que producían una leucocitosis más o menos intensa (LANDERER), a ciertas tentativas de bacterioterapia basadas en pretendidos antagonismos (por ejemplo, entre el bacilo del carbunco y el estreptococo de la erisipela), al empleo, por parte de los cirujanos, de nucleínato sódico para producir un aumento de resistencia no específica contra diversas infecciones antes de emprender o después de haber practicado intervenciones en regiones no asépticas, etc. Pero durante muchos años el triunfo de la inmunidad específica, sea humoral, a base de anticuerpos, o histógena (ésta es más oscura y mal definida) hicieron casi olvidar la posibilidad de producir con medios *no específicos*, y especialmente con la inyección de substancias coloidales, modificaciones orgánicas bastante profundas, capaces de ayudar al organismo a vencer un proceso morboso de naturaleza infectiva.

Desde hace solamente pocos años, y quizá con un entusiasmo demasiado exclusivo y exagerado que ha llegado a hacer olvidar a algunos los beneficios de la inmunidad específica, se ha vuelto al estudio y a la práctica de lo que CENTANNI ha llamado tercera inmunidad, que es el conjunto de mecanismos defensivos no específicos capaces de ser exal-

(1) Citemos el excelente artículo de BELFANTI, *Terapia proteínica*, en el *Policlin.*, Sez. prat., 1922; además: PETERSEN, *Proteintherap. a. non spec. resistence*, New-York, Mc. Milian Comp., 1922; MATTHES, *Klin. Woch.*, 1922, n.° 44; SCHITTENHELM, *Med. Klinik*, 1922, n.° 30; WEICHARDT, *Ergebn. d. Hyg. Bakt. u. Immunitätsforsch.*, vol. V, 1922. Se encuentran muchos datos y detalles originales en el libro de CENTANNI, *Immunologia*, Milán, 1921.

tados por la introducción en las vías circulatorias (por vía parentral) de diversas substancias alterantes. La denominación de *coloidoterapia* es muy amplia e incluye también la acción de los coloides inorgánicos (metales en estado coloidal, azufre coloidal, etc,); el término *proteinoterapia* o *terapéutica proteínica* se refiere al material modificador más corrientemente empleado, representado por variadísimas proteínas heterólogas o heterogeneizadas; sueros heterólogos (frecuentemente suero de caballo, el más fácil de obtener), leche o proteínas de la leche (caseosan, caseal y otros preparados con denominaciones comerciales muy diversas), peptonas o albumosas, líquidos orgánicos del mismo paciente, extraídos y, por lo tanto, desnaturalizados o heterogeneizados, como en los métodos de autoseroterapia, etc.

La acción de los materiales orgánicos, como varios compuestos metálicos, coloidales o no, sería según algunos (CENTANNI) debida a que éstos se combinan con las proteínas corpóreas, heterogeneizándolas más o menos, y el agente modoficador y terapéutico se reduciría siempre a proteínas que penetran en el medio orgánico interno por vía parenteral y que determinan modificaciones profundas de este medio y, por lo tanto, de las células.

Acerca de la acción de los metales coloidales, ya hemos dicho algo: producen reacciones leucocitarias, modifican la coagulación de la sangre e influencian los procesos fermentativos endocelulares. La escuela de ASCOLI (1) ha estudiado particularmente este fenómeno de aumento de los procesos autolíticos por la acción de los metales coloidales y WARBURG (2) ha visto que pequeñas cantidades, indicios solamente, de oro, plata y cobre elevan de un modo notable los fenómenos de oxidación en el protoplasma. Según SCHADE los metales obran como poderosos catalizadores de varias reacciones del metabolismo, y en ello se fundaría principalmente su acción terapéutica. En efecto, este autor ha demostrado la elevación de las oxidaciones por la inyección intravenosa de Ag coloidal (colargol) y FOÁ y AGAZZOTTI demostraron (3) la neutralización de varias toxinas, no *in vitro*, sino *in vivo* por medio del colargol. Pero nosotros queremos hablar particularmente de las proteínas, agentes complejos y, por lo tanto, de influencia menos fácilmente analizable sobre varios procesos metabólicos del organismo sano o enfermo. La inyección por vía parenteral (la intravenosa es la más activa y muchas veces la única activa, porque pone directamente en contacto el agente modificador con el medio orgánico interno) de una proteína heteróloga va seguida de fenómenos *inmediatos* muy complejos y diversos (dejando por ahora aparte fenómenos más *remotos*, como la formación de anticuepros y sus consecuencias, una de las cuales es la anafilaxia, que no corresponden a este lugar). La acción es frecuentemente *bifásica*, conforme a la conocida ley biológica de

(1) Véase: ASCOLI e IZAR, *Bioch. Zeitschr.*, vol. V y VI; *Berliner klin. Woch.* 1907, n.° 24.
(2) *Ergebn. d. Physiol.*, 1914.
(3) *Giornale della R. Accademia di Medicina di Torino*, vol. XIII, pág. 5.

ARNDT-SCHULTZ, según la cual cualquier agente externo produce primero un fenómeno de un orden determinado (por ejemplo, estimula) a cargo de la célula y luego un fenómeno de orden opuesto (por ejemplo, paraliza); así, después de la inyección del proteínas casi siempre hay una leucopenia seguida de leucocitosis y modificaciones en sentido sucesivamente opuesto de la coagulabilidad de la sangre (Cap. III, *d*). En la sangre aumenta el fibrinógeno, aumenta la labilidad de los coloides plasmáticos y, en consecuencia, la velocidad de sedimentación de los hematíes; aumentan las globulinas respecto a las albúminas, quizá desciende el índice de refracción por el aumento de agua en la sangre (procedente de los tejidos?); aumenta frecuentemente la proporción de glucosa. Se obtiene, pues, el síndrome hematológico, que Widal y sus discípulos han reunido con el nombre de *crisis hemoclásica* y con demasiado e injustificado esquematismo han querido encontrarla en muchas formas morbosas que probablemente no tienen nada que ver con la penetración de proteínas heterólogas y con la consiguiente alteración del equilibrio coloidal del plasma.

Frecuentemente hay hipotermia al principio y luego fiebre, o hipertermia desde el primer momento; en efecto, sabemos actualmente que las proteínas heterólogas o sus productos de desintegración son agentes particularmente aptos para modificar los centros nerviosos termogenéticos o termorreguladores, y hasta se atribuye el mecanismo patogénico de la fiebre al de una *intoxicación proteica*. Pero no sólo se modifican los centros nerviosos por la inyección de proteínas; otras regiones del sistema nervioso vegetativo lo son igualmente, hasta tal punto que se obtienen variadas modificaciones de la reactividad a la adrenalina, a la pilocarpina, a los cuerpos digitálicos, etc.

El metabolismo general está principalmente interesado, en particular en el sentido de un aumento de las desintegraciones, de un ritmo más acelerado de todos los procesos del metabolismo, especialmente por lo que hace referencia a los cuerpos proteicos. En realidad las investigaciones más recientes, desde las de SCHITTENHELM y WEICHARDT (1) en adelante, no hacen más que comprobar y confirmar los datos antiguos de MATTHES y KREHL, según los cuales las inyecciones de albumosas dan lugar a una mayor eliminación de N, superior a la cantidad de N introducida con aquellos cuerpos, e indican, por lo tanto, que, aunque los materiales proteicos o los derivados proteicos introducidos sean más o menos atacados, ha aumentado la destrucción de proteínas corpóreas.

En 1914 HASHIMOTO y PICK (2) demostraron que en el hígado de cobayo inoculado con suero heterólogo (de caballo) podía reconocerse durante varios días un aumento del N no coagulable (no proteico) a expensas del proteico; los trabajos sucesivos de GOTTSCHALK y sus

(1) *Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Therap.*, vol. X, XI, 1912.
(2) *Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol.*, vol. LXXVI.

colaboradores (1), de FREUND (2), de ISAAC y BIELING (3) confirman estos datos acerca del aumento del N de los productos de desintegración a expensas del N de las proteínas y, por lo tanto, confirman el desarrollo de verdaderos e intensos fenómenos de autolisis en el hígado de los animales a los que se han inyectado proteínas heterólogas. Probablemente lo que sucede en el hígado, órgano de metabolismo intenso, sucede de una manera menos fácilmente demostrable en varios órganos bajo la influencia de las proteínas heterólogas. WEICHARDT ha encontrado recientemente (4) que en el hígado y en los músculos del cobayo sobrefatigado se nota un análogo aumento de los productos de desintegración proteica, que es indicio de una función desasimilativa de los venenos de la fatiga, productos también de desintegración celular que obran de una manera análoga a las proteínas heterólogas inyectadas parenteralmente. Además de los fenómenos proteolíticos, por la inyección parenteral de proteínas quizá se desarrollan también fenómenos lipolíticos (5).

Cuando en el organismo existe un proceso flogístico, éste es particularmente influenciado por la inyección proteinoterápica; a una fase de exaltación inicial de los fenómenos flogísticos, sigue una fase de atenuación más o menos pronunciada: en esto se funda el empleo de la proteinoterapia en muchas afecciones locales (oculares, auriculares, nerviosas, etc.). Por el hecho de la inyección el organismo queda modificado en su capacidad reactiva respecto a los estímulos morbosos, de tal modo que algunos han hablado de una especie de *alergia no específica*. Sin embargo, es erróneo querer reducir a este único punto de vista las reacciones tuberculínicas, maleínicas, etc., que tienen (quizá junto al elemento no específico) un claro factor específico que aparece siempre que se tienen en cuenta las relaciones cuantitativas exactas. Es probable (6) que los fenómenos de aumento de desintegración proteica, que en el organismo normal se desarrollan en el hígado posteriormente a la inyección de proteínas heterólogas, en el organismo enfermo se desarrollen también o preferentemente en el foco morboso facilitando la destrucción de los tejidos necróticos, la destruccción y eliminación de venenos, etc. ¿Cuál es el mecanismo de la acción útil de la proteinoterapia, que, además de ciertas afecciones localizadas sobre las que obra como una verdadera terapéutica resolvente rápida, ejerce sus mejores resultados (quizá exagerados, sin embargo, y ciertamente no constantes) en la fiebre tifoidea, en las infecciones piógenas, y pneumonías? La explicación por un desequilibrio coloidal en el plasma al que sucedería el de los protoplasmas (coloidoclasia plasmática y celular) tal como admiten WIDAL y sus discípulos (7),

(1) *Id.*, vol. XCVI.
(2) *Id.*, vol. LXXXVI, LXXXVIII, XCI, XCVI.
(3) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXV, XXVI, XXVIII.
(4) *Klin. Woch.*, 1923, n.° 51.
(5) RONA, PETOW y SCHREIBER, *Klin. Woch.*, 1922, pág. 2366.
(6) BIELING, *Klin. Woch.*, 1923, n.° 27..
(7) *Presse médicale*, 1920-1921-1922.

no satisface porque en el fondo no hace más que describir el fenómeno de una manera unilateral y poco imparcial. Es muy probable que la simple perturbación del estado físico, por ejemplo de la dispersión, de los coloides, del plasma y de los tejidos deba tener importancia por modificar las condiciones de vida de los microorganismos, la aptitud fagocitaria de las células y las relaciones entre las células y los gérmenes o sus venenos, pero hasta ahora existen pocos datos precisos en este sentido. SACHS observa, por ejemplo, que una disminución de la dispersión de las globulinas plasmáticas puede desencadenar fenómenos fermentativos, autolíticos, refrenados normalmente por la particular estructura químico-física de las proteínas del plasma. Otros dan más importancia a factores más claramente químicos. PETERSEN y otros creen que las inyecciones de proteínas modifican las relaciones entre los fermentos y antifermentos del plasma (y de los tejidos?) y si admitimos, como algunos, que los antifermentos no son cuerpos bien definidos, sino el resultado de la especiel estructura química y químico-física de las proteínas del plasma sanguíneo, que les permite una resistencia especial a las proteasas circulantes normales o anormales, nos aproximamos mucho a la hipótesis de SACHS. Pero PETERSEN mismo supone que los antifermentos séricos son de naturaleza lipoide, de donde la concepción más estrictamente química que sostiene. Este investigador admite varias leucoproteasas y también leucoereptasas (por lo tanto fermentos de origen leucocitario) y relaciona el curso de la enfermedad con el comportamiento de estos fermentos.

WEICHARDT ha introducido el concepto de la *activación del protoplasma;* los productos de desintegración proteica (hasta y sobre todo los de las proteínas corpóreas, cuya escisión aumenta según está demostrado después de la inyección proteinoterápica) obran modificando la reactividad celular frente a varios estímulos, en el sentido de una exaltación de las prestaciones funcionales de las mismas células. Este autor habría visto, entre otros hechos dignos de tenerse en cuenta, que estos productos de desintegración activan también las funciones nutritivas y fermentativas de los microorganismos. Bajo la influencia de estas substancias activadoras, las células corpóreas exaltarían sus funciones, con ventaja para la defensa orgánica, cuando el organismo está bajo la influencia de causas patógenas varias. Los productos en cuestión no tendrían nada de específicos; serían solubles en alcohol y en agua y más o menos termolábiles. También GOTTLIEB y FREUND (1) dan importancia en la proteinoterapia a los productos de desintegración celular no excesivamente complejos y solubles en alcohol, que, por lo tanto, deberían ser lipoides o derivados proteicos extraíbles con alcohol, tales como muchas aminas proteinógenas; el hecho de que exista una acción sobre el sistema nervioso vegetativo hablaría en favor de la analogía con estas aminas y justificaría su aproximación a las hormonas. En realidad muchos hablan de *hormonas de necrosis*

(1) *Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol.*, vol. XCIII.

celular, hormonas de desintegración, de *hormonas de las heridas,* como las que HABERLANDT ha descrito en los vegetales como substancias procedentes de los tejidos lesionados, que activan la regeneración. En el fondo parece que también deberían incluirse aquí las estomosinas de CENTANNI. Mientras algunos, pues, como PETERSEN, piensan en una alteración del equilibrio estre fermentos y antifermentos, otros, como WEICHARDT, FREUND y GOTTLIEB, etc., dan valor a los productos de escisión de las proteínas introducidas o más especialmente de las del organismo, así como a los derivados de la desintegración de los componentes celulares.

El estímulo de la proteinoterapia es considerado por algunos como *omnicelular,* de acción, por lo tanto, general; según otros, obra sobre el sistema nervioso vegetativo, sobre órganos especiales o, más particularmente, sobre los tejidos alterados por el proceso morboso. No hay que olvidar, además, el hecho, conocido desde hace muchos años, de la excitación que muchas substancias *(leucoestimulantes)* provocan sobre la fagocitosis: así las peptonas y otros productos empleados en proteinoterapia son precisamente leucoestimulantes (NEISSER y GUERRINI). También hay que tener en cuenta la acción excitante sobre la producción de anticuerpos específicos determinada por varias intervenciones no específicas, por ejemplo la sangría, y lo que se sabe sobre la utilidad de la fiebre para el organismo, que es ayudado por ésta para quemar y eliminar los venenos exógenos y endógenos.

No existe ningún motivo serio para admitir que las ventajas de la proteinoterapia, cuando existen (y frecuentemente han sido exageradas) tengan la misma explicación en una tifoidea que en una iridociclitis, en una neuralgia o en una neuritis que en una infección puerperal, en la parálisis progresiva (tratamiento con inoculación de tuberculina o más recientemente de malaria o de fiebre recurrente) que en una artritis gonocócica.

CAPÍTULO VI

Las constantes químico - físicas de la sangre y las condiciones químico - físicas de la vida celular

a) Presión osmótica. Osmorregulación.

En el organismo se encuentran soluciones de diferente concentración molecular, separadas por membranas que, sin llegar casi nunca a la semipermeabilidad (que, por otra parte, tampoco es perfecta) de las membranas artificiales, como las construídas con precipitados (véase también Cap. II) todavía tienen cierto grado de semipermeabilidad y permiten el paso del disolvente (agua) con mayor o menor facilidad en comparación con las substancias disueltas; se comprende por lo tanto que se presenten condiciones a propósito para que se manifiesten presiones osmóticas más o menos elevadas. Como observa Reiss (1), para los cambios de líquido en el organismo no es indiferente que dos soluciones de distinta concentración molecular (y iónica) estén separadas por gruesas capas epiteliales o por membranas sutilísimas, tales como la hojilla visceral de la cápsula de Bowman del glomérulo (y endotelio vascular). La orina puede permanecer mucho tiempo en la vejiga íntegra conservando una concentración mucho mayor que la sangre que circula por los vasos de las paredes; así como, durante breves horas, no tiene lugar una difusión de sales u otras substancias del contenido vesical, generalmente hipertónico, hacia la sangre, tampoco se observa generalmente el paso de agua desde la sangre hacia la cavidad vesical; no puede hablarse, por lo tanto, de una membrana osmótica y de una presión osmótica que se ejerza entre esta cavidad y la sangre. La permeabilidad de las membranas animales varía ciertamente (ya lo habíamos indicado en el capítulo II) según las condiciones fisio-patológicas y según las necesidades del organismo, que tiene una electividad (que no podemos dejar de considerar provista de un criterio finalístico) respecto al agua, coloides y cristaloides disueltos para admitirlos o no a través de ciertas membranas. Vemos, precisamente a propósito de la pared vesical y según las antiguas experiencias de Fasola y Galeotti (2), que en

(1) *Klin. Woch.*, 1922, n.° 22.
(2) *Arch. ital. de Biol.*, vol. XXXIX.

estado normal esta membrana separa perfectamente los dos medios, orina y sangre, y es impermeable al agua, a la sacarosa y al NaCl (excepto a las grandes concentraciones de NaCl en la vejiga, que provocan un paso de la sal hacia la sangre) mientras que, si está lesionada, se comporta como una membrana semipermeable inerte (Bottazzi observa justamente que la permeabilidad parcial para el NaCl que presentan las paredes de la vejiga en casos de concentraciones fuertemente hipertónicas de dicha sal, quizá es debida a lesiones del epitelio); así, pues, la membrana viva es completamente o casi impermeable, no permite actuar a las fuerzas osmóticas, y la finalidad de la vida de los epitelios es, desde este punto de vista, impedir que se verifiquen cambios, *incluso de agua*, en medida apreciable, y que entren en juego las fuerzas osmóticas. Tomando como ejemplo la membrana representada por la pared intestinal, sabemos, desde las clásicas investigaciones de Heidenhain (1) que entre el contenido intestinal y los tejidos (o la sangre) se verifica un cambio de agua, sales y otros cuerpos disueltos, que transcurre en parte según las leyes de la ósmosis pero que por otro lado está directamente opuesto a ellas; así, de una solución hipertónica de NaCl contenida en la cavidad intestinal es absorbida la sal, mientras que según las leyes osmóticas y si la pared fuese simplemente una membrana semipermeable, debería pasar agua hacia el contenido del intestino. La pared intestinal absorbe de una manera excelente y al mismo tiempo tanto el agua como los cuerpos disueltos (sales, azúcares), cuando éstos constituyen dentro la cavidad una solución isótonica con la sangre: así el suero de la sangre de perro es reabsorbido total y rápidamente por el asa intestinal del perro, (Heidenhain) y es una buena práctica, derivada de estas nociones, la de preparar los enemas nutritivos aproximadamente en condiciones de isotonía. El epitelio del intestino posee de una manera exquisita el poder selectivo respecto a las substancias disueltas en el contenido intestinal, y actualmente ya nadie sostiene que en la absorción intestinal predominen fuerzas osmóticas ciegas. Añadamos además que las membranas vivas pueden aproximarse bastante a las verdaderas membranas semipermeables. Hace algunos años lo demostraron Bottazzi y Enriques con el ejemplo del estómago de *Aplisia*, que es de una semipermeabilidad casi perfecta y no deja pasar el cloruro amónico ni siquiera la urea, tan difusible. Puede, pues, decirse en resumen que la presión osmótica no tiene gran importancia en el organismo como fuerza activa; por el contrario, si aparecen presiones osmóticas, quizá es función del protoplasma vivo resistirlas y trabajar contra ellas, como se verifica de la manera más evidente en el riñón, que separa de la sangre una orina que con frecuencia es notablemente hipertónica, realizando un trabajo que Galeotti (2) ha conseguido calcular matemáticamente. Sin embargo la presión osmótica tiene especial im-

(1) *Pflüger's Arch. f. d. ges. Phys.*, vol. LVI.
(2) *Arch. f. Anat. u. Phy iol.*, 1902.

portancia como condición fundamental del medio orgánico interno, la cual no puede alejarse mucho de cierto valor sin grave daño de los protoplasmas; tiene, pues, importancia sobre todo porque debe ser *constante*. En efecto, los líquidos internos de los organismo superiores presentan un presión osmótica, que se determina comparativamente por medio del Δ, y que es aproximadamente igual para todos: la sangre o el suero de la sangre humana tienen un $\Delta = -0{,}55°$ hasta $-0{,}58°$ (SCHADE); para los otros mamíferos se encuentran valores un poco distintos, aun cuando existe una fijeza menos constante que en el hombre (buey : $-0{,}55°$-$0{,}65°$; conejo $-0{,}55°$-$0{,}62°$; oveja $-0{,}55°$-$0{,}67°$). Como a cada milésima de grado corresponde una presión osmótica de 0,012 atm. = 9,1 mm. de Hg, tendremos que una solución como la sangre, de un $\Delta = -0{,}56°$ (por término medio), tendrá a 0° una presión osmótica de $560 \times 0{,}012 = 6{,}72$ atm., o sea de 5096 mm. de mercurio. Como por otra parte un mol de una substancia cualquiera disuelta molecularmente en 1 litro de agua da siempre un $\Delta = -1{,}85°$ (porque todas las soluciones equimoleculares tienen la misma presión osmótica) tendremos que la sangre, con su $\Delta = -0{,}56°$, corresponde a una solución de cualquier substancia molecularmente dispersa, que tuviese una concentración de $\frac{0°,56}{1°,85}$ calculada en mols, esto es, que fuese 0,302 normal. Pero, naturalmente, para alcanzar aquel valor osmótico, colaboran en la sangre moléculas enteras, iones y, en pequeño grado, incluso los coloides, cuyas disoluciones tienen una presión osmótica pequeñísima.

Ahora bien, las células tienen una extrema necesidad de esta constante osmótica: nótese que, según la ley de GAY-LUSSAC aplicable a los gases y soluciones moleculares, las 6,7 atmósferas de la presión osmótica a 0° se elevan a 37°, o sea a la temperatura del cuerpo, hasta $6{,}7\ (1 + \frac{1}{273} \times 37) = 7{,}6$ atmósferas, y que esta enorme presión es inofensiva porque actúa dentro y fuera de las células. Pero si esta presión se modifica, por poco que sea, dentro o fuera de las células, aparecen inmediatamente alteraciones de su contenido acuoso y, por lo tanto, del volumen celular: éste aumenta si la presión osmótica baja fuera de la célula, y disminuye si la presión osmótica crece por fuera del recinto celular. Circunscribiéndonos a las células de la sangre, recordemos que los hematíes son osmómetros delicadísimos (Cap. II) y que por efecto de alteraciones osmóticas los leucocitos de los mamíferos presentan una disminución notabilísima de la función fagocitaria: basta diluir suero con agua a partes iguales, para que los leucocitos reduzcan a cosa de $^1/_{40}$ su aptitud para la fagocitosis. *Para la explicación de las funciones celulares es, pues, necesaria una gran constancia de la presión osmótica en las células y en el medio en que viven*, ya que el protoplasma es un sistema complejo en el cual la relación entre el agua y las substancias disueltas no puede variar más que dentro de límites reducidísimos. Insistamos, sin embargo, en lo que ya en la

primera parte de este libro hemos indicado varias veces: que no es sólo la presión osmótica la que regula los cambios de agua entre las células y el medio exterior (por ejemplo, para los metazoos, entre las células y los líquidos intersticiales), sino que existe otra gran fuerza, que es la imbibición de los biocoloides, que no tiene menor importancia. Sea como fuere, debemos tener bien presente esta condición fisiológica fundamental : la *isotonía del medio celular*, que se cumple artificialmente empleando soluciones salinas isotónicas en todos aquellos casos en que queramos tratar los tejidos por un líquido osmóticamente indiferente; tal es, por ejemplo, la tan conocida solución fisiológica de NaCl, que para las células de los mamíferos debe ser al 0,9-1,0 %. En su debido lugar veremos que esta solución fisiológica sólo lo es desde el punto de vista osmótico, pero no cumple todas las condiciones de absoluta indiferencia para las células vivas.

Volviendo a la sangre, notemos que la sangre venosa tiene un Δ de $0{,}01°$-$0{,}02°$ más bajo que la sangre arterial; esto se debe al CO_2 disuelto en la primera, que aumenta ligeramente la presión osmótica. Basta hacer pasar durante 10 minutos una corriente de oxígeno a través de la sangre venosa para obtener el valor crioscópico normal (sin «error del CO_2»). FANO y BOTTAZZI (1) encontraron que la sangre de la vena porta tiene también una presión osmótica un poco más baja que la sangre de la vena suprahepática, en la cual se deben encontrar productos del metabolismo intensísimo del hígado. También la *linfa* tiene, en general, valores osmóticos un poco más elevados que la sangre, por la presencia de productos catabólicos de molécula pequeña y osmóticamente activos: así BOTTAZZI (2) da para la linfa del conducto torácico un valor de $\Delta = -0{,}615°$, y para el quilo $\Delta = -0{,}64°$. Los jugos celulares verdaderos tienen valores todavía un poco más elevados (SABBATANI); puede, pues, decirse que hay una disminución de la presión osmótica desde las células al líquido intersticial, y de éste a la sangre (SCHADE), y que la sangre arterial presenta el mínimum de presión osmótica y con su gran masa tiende a obtener el equilibrio general de las alteraciones locales debidas a las funciones de los órganos. ayudada en ello por el maravilloso mecanismo osmorregulador que pronto describiremos. La siguiente tabla (que copiamos de BOTTAZZI) (3) contiene algunos datos cuya comparación es útil:

Líquidos		Observadores
Líquido ascítico (hombre ?).	0,525°-0,55°	
Líquido ascítico de perro.....	0,6°	
Exudado pleural.....	0,50°-0,55°	
Líquido de hidrocele.....	0,55°-0,60°	
Líquido peritoneal. Casos de cirrosis hepática.....	0,50°-0,525°	
Exudado pericardíaco.....	0,60°-0,61°	(DRESSER)
Varios líquidos serosos.....	0,50°-0,57°	(WINTER)

(1) *Arch. ital. de Biol.*, vol. XXVI.
(2) *Ergebn. d. Physiol.*, VII, 1907.
(3) *Chimica-fisica*, Milán, 1906.

Líquidos		Observadores
Linfa (de perro)	0,625°	(Fano y Bottazzi)
Líquido seroso de un quiste ovárico multilocular	0,552°	(R. Onorato)
Líquido, bastante denso y casi filante, de otra cavidad del mismo quiste	0,557°	(Onorato)
Líquido céfalo-raquídeo	0,56°-0,75°	(Widal, Sicard y Ravaut)
Id., íd. (mal de Pott)	0,58°-0,65°	(Widal, Sicard y Ravaut)
Id., íd. (meningitis tuberculosa)	0,47°-0,51°	(Widal, Sicard y Monod)

Como normal general, todo aumento de función en los tejidos va acompañado de una desintegración, de una formación de moléculas pequeñas a expensas de las moléculas grandes, que tiene como consecuencia el aumento de la concentración molecular y, por lo tanto, de la presión osmótica. Pero la sangre lo recoge y compensa todo y mantiene constante de una manera casi absoluta — en la vida fisiológica — el conjunto de moléculas + iones disueltos. Se comprende que para esta regulación, que *debe* ser perfecta, no basta únicamente la gran masa de la sangre: se cita con frecuencia un experimento de Hamburger, quien inyectó en las venas de un caballo siete litros de solución de sulfato sódico de concentración tal que, basando el cálculo en la sola dilución que sufría al ser mezclada con la sangre la presión osmótica, hubiera debido adquirir un valor aproximadamente doble; por el contrario, a los pocos minutos era del todo normal.

Durante la vida fisiológica, además de la llegada de la linfa de los tejidos a la sangre, se realizan continuamente otros procesos que actúan contra la constancia de la presión osmótica; se eliminan de la sangre por distintas vías, materiales disueltos o agua; llegan del exterior de la sangre con los alimentos y bebidas las substancias de presión osmótica más variada, y se vierten en ella los productos de la actividad celular, con lo cual se obtiene un complejo de factores que tienden a alterar la *homoosmia* o *isotonía osmótica* de la sangre, disminuyendo o aumentando (1) el Δ.

Así, la superficie pulmonar elimina agua, y, por lo tanto, tiende a elevar la concentración de los cuerpos disueltos en el plasma sanguíneo; pero también elimina CO_2, o sea una substancia osmóticamente activa, y por este medio desciende la concentración molecular plasmática. Según la relación que exista entre la eliminación de agua y la de CO_2 (que depende a su vez de muchos factores externos e internos), la ventilación pulmonar actuará en uno u otro sentido sobre el Δ.

La secreción del sudor tiene constantemente una influencia hipertonizante sobre la sangre, porque el sudor tiene un Δ por lo general más bajo (hasta — 0,08°); es, por lo tanto, hipotónico y ocasiona más pérdidas de agua que de substancias disueltas. La alimentación tiene una influencia compleja: muchos alimentos y bebidas son hipertónicos, pero algunos otros y el agua pura son hipotónicos; las secreciones digestivas son ligeramente hipotónicas; su secreción es, por lo tanto, un poco hipertonizante para la sangre; además el trabajo de la absorción intestinal implica la penetración en la sangre de moléculas osmóticamente activas de azúcar, aminoácidos, etc.; en resumen: la alimentación tiende preferentemente a hipertonizar la sangre, y en realidad durante las horas que siguen a las comidas, algunas veces se ha encontrado un ligero aumento de la presión osmótica de la sangre. Si los procesos de desasimilación tienden, en general, al aumento de la presión osmótica, los de asimilación y sintéticos, con la reducción del número de moléculas, tienden a la disminución de las misma; ahora bien, si a pesar de esta acción continua contra la homoosmia de la sangre, inherente a la realización de tantas funciones fisiológicas, la presión osmótica se mantiene constante, deben existir *medios de osmorregulación* potentes, rápidos y precisos. ¿Cuáles son? El más conocido y apreciado unánimemente desde hace mucho tiempo es la *secreción renal;* el riñón sabe adaptar su trabajo de eliminación de agua y de substancias disueltas osmoactivas a las necesidades de la isotonía de la sangre, de manera que cuando en ella tiende a aumentar el contenido acuoso y, por lo tanto, a descender el Δ, elimina más agua y retiene los cuerpos disueltos, mientras que si en la sangre se acumulan substancias osmoactivas, el riñón las extrae y elimina con gran prontitud ; en el primer caso el riñón elimina una orina más diluída, mientras que en el segundo ésta es más concentrada. En realidad, si el riñón está sano, el Δ de la orina (1) es capaz de oscilar muchísimo y especialmente entre — 0,08° y un poco por encima de —3°, o sea que hay un intervalo de unos 3° entre el mínimo y el máximo: el riñón normal, por lo tanto, es capaz de un notable trabajo de *dilución* o de *concentración* según los casos y, poniendo en juego esta actividad, obra como osmorregulador de la sangre. Actualmente, después de los estudios clásicos de v. Koranyi (2) y de los más recientes de Volhard (3), se puede hablar de *amplitud de acomodación osmótica* del riñón, que es precisamente de unos 3° para el riñón normal y está notablemente reducida en el riñón enfermo. Este último ya no puede eliminar ni orina demasiado diluída ni muy concentrada : para v. Koranyi, el mínimum de adaptación renal se encontraría en las nefritis parenquimatosas subagudas, en las cuales se eliminarían orinas con Δ máximo de 0,74°-1°,27 y mínimos de 0,53°-0,8° y, por lo tanto, con oscilaciones de medio grado o poco más. El riñón enfermo

(1) Cuando se habla del *aumento* del Δ debe entenderse un *aumento del descenso* bajo O del punto de congelación, o sea una depresión mayor de este punto. Muchas veces se omite por comodidad el signo — ; por ejemplo : un Δ = 0,65 es *mayor* que un Δ = 0,55, lo cual quiere decir que la primera solución congela a — 0,65°, esto es, a temperatura más *baja* que aquella que congela a — 0,55°, y que la primera tiene una concentración molecular mayor que la segunda.

(1) En muchos libros se designa por δ el descenso del punto de congelación de la sangre y por Δ el de la orina.
(2) Véase : v. Koranyi y Richter, *Physikal. Chem. u. Medic.*
(3) *Handb. d. inn. Med.* de Mohr y Staehelin.

eliminaria un líquido más próximo al Δ de la sangre porque ya no tendría toda la capacidad de concentración o de dilución necesaria para eliminar un líquido mucho más concentrado o mucho más diluído, como es o puede ser la orina normal. Actualmente, en el diagnóstico de las enfermedades del riñón se emplea mucho la prueba artificial de esta capacidad renal: se practica administrando al paciente (en reposo) 1 ½ litros de agua, recogiendo la orina cada media hora, y determinando su Δ o, más sencillamente, su peso específico; pasadas 4 horas el paciente, que con el riñón íntegro debería ya haber eliminado toda el agua en forma de orina proporcionalmente diluída, recibe una comida seca; entonces, con el riñón normal, el peso específico urinario (o el Δ) debe aumentar rápidamente y el paciente ha de poder soportar el régimen seco durante varias horas (hasta el día siguiente) sin experimentar una sed excesiva (1).

En caso de lesiones renales la orina se diluye poco por efecto de la bebida, la masa total de agua no es eliminada en 2-3 horas, sino en un tiempo mucho más largo y la concentración por el régimen seco consecutivo es escasa. Durante este segundo período el paciente experimenta una sed intensa porque la sangre, de la cual el riñón no puede eliminar con la debida rapidez las substancias sólidas, para no volverse hipertónica extrae agua de los tejidos, que se deshidratan y provocan la sensación de sed. Este es el otro medio de osmorregulación, el *extrarrenal*, puesto en evidencia particularmente por SCHADE: el recambio de agua y substancias disueltas (especialmente *sales*, las más activas osmóticamente, porque son de molécula más pequeña) entre la sangre y los tejidos. Los tejidos, en especial el conjuntivo de los órganos, son como un verdadero y vasto depósito o como una especie de esponja colosal, que se imbibe fácilmente de agua y fija diversamente las sales o retiene también otras substancias. En este conjunto tan complicado de fenómenos entran en juego fuerzas puramente osmóticas, fuerzas de imbibición coloidal y fuerzas químicas variadas, gracias a todas las cuales el agua y las substancias disueltas se reparten entre la sangre y los tejidos. El agua, incluso en la sangre, no está nunca completamente libre a disposición de los cristaloides

(1) El Δ da el número de moléculas disueltas en la unidad de volumen, y el peso específico da el peso total de estas moléculas, prescindiendo de su número: los dos valores tienen una significación químico-física completamente distinta. Sin embargo, en la práctica existe cierto paralelismo entre los dos valores, especialmente si se trata de orinas no albuminosas (la albúmina eleva el peso específico y poco o nada el Δ). Por lo tanto, siendo el peso específico mucho más fácil de determinar que el Δ, la prueba del agua (o de la dilución) y la de concentración urinaria consecutiva se acostumbran a fundar en la determinación del peso específico. Adviértase la necesidad de medir el peso específico a temperatura siempre igual (15°) o reducir a ella las densidades encontradas a otra distinta. Para cada 3 grados por encima de 15° hay que añadir una milésima y para cada 3.° por debajo de 15° se debe sustraer una milésima del peso específico, medido con un areómetro provisto de termómetro; si, por ejemplo, a 21° se encuentra un peso específico = 1,028, su valor a 15° será $1{,}028 + \frac{(21-15)}{3} = 1{,}028 + 2 = 1{,}030$.

como disolvente, sino que en parte está unida, obrando como agua de imbibición de los coloides (proteínas) del plasma sanguíneo, como ELLINGER ha demostrado bien claramente.

Las fuerzas puramente osmóticas afectan al agua libre, la cual pasa con facilidad de la sangre a los tejidos, o viceversa. Como observa SCHADE comentando el experimento verificado por HAMBURGER, en un primer tiempo, frente a los profundos trastornos osmóticos, debe entrar en juego el mecanismo extrarrenal para volver rápidamente el Δ a su valor normal, y solamente más tarde, asegurada ya la presión osmótica normal, el riñón cuida de ordenar las presiones osmóticas de los distintos constituyentes del plasma y de restablecer en éste el equilibrio químico, además del osmótico. Por razones de esta clase, muchas veces, a pesar de lesiones seguras del riñón, el Δ de la sangre es normal, y difícilmente se altera hasta durante el curso de la prueba de dilución y concentración porque entra agua de la sangre hacia los tejidos, o viceversa (según que la presión osmótica de la sangre tienda a crecer o a disminuir), con tal prontitud que no da tiempo a que obre el factor anisotonizante.

Quizá en estos casos las determinaciones del índice de refracción del suero, paralelamente a las criscópicas, podrían proporcionar datos útiles: el refractómetro mide la concentración proteica y, durante una prueba clínica de dilución o concentración, la riqueza en proteínas debería oscilar por la penetración de agua (hidremia) o su salida (oligohemia seca), aun cuando el Δ permaneciese constante.

A pesar de la eficacia de estos factores osmorreguladores, pueden existir patológicamente modificaciones del Δ, precisamente cuando alguno de aquellos factores está paralizado o cuando está perturbada la coordinación entre los distintos procesos que intervienen en la osmorregulación. El caso más sencillo es el de una supresión total de la función renal (anuria), producida experimentalmente por la extirpación de los dos riñones y observada clínicamente en varios procesos morbosos: el Δ crece y se han observado valores hasta de — 0,88°, aun cuando en el hombre esta hipertonía por insuficiencia osmorreguladora de origen renal, no sea inmediata, sino que aparece al segundo, tercero o cuarto día de anuria, cuando los otros mecanismos compensadores extrarrenales, puestos en actividad en los primeros momentos, están evidentemente agotados. No queremos atribuir una relación tan íntima, como hace SCHADE, entre la sintomatología clínica de estos casos y la hipertonía de la sangre porque se trata de casos complejos: otras características químico-físicas de la sangre y su misma composición química se hallan también modificadas; en la sangre se acumulan diversas substancias tóxicas y, por lo tanto, no sólo está alterada la suma numérica total de moléculas y iones, de la que depende la presión osmótica, sino también la cualidad y las relaciones proporcionales entre estas moléculas y iones.

Prescindiendo de este caso extremo, se observan algunas veces valores bastante elevados del Δ en enfermos renales, lo que se debe

a la acumulación en el plasma de productos del metabolismo no eliminados suficientemente y en especial, por lo que parece, a productos del metabolismo nitrogenado (urea, etc.), o sea a cristaloides no electrólitos. En efecto: cuando Δ está aumentado no se encuentra, en estas formas renales, un aumento correspondiente de la conductibilidad eléctrica, que está en relación con la concentración en cuerpos ionizados (KORANYI y RICHTER). También en enfermedades cardíacas con descompensación, en afecciones pulmonares debidas a algún obstáculo a la ventilación pulmonar, como en la asfixia de origen mecánico, hay hipertonía osmótica de la sangre; ésta es debida en parte al acúmulo de CO_2; la hipertonía es, por decirlo así, la compañera de la cianosis; pero deben influir también los productos intermedios del metabolismo, no quemados completamente, cuya presencia en la sangre no está compensada (no puede serlo por el obstáculo respiratorio) por la eliminación correlativamente aumentada de CO_2. De todos modos, las hipertonías de origen cardio-pulmonar se distinguen de las de origen renal en que, haciendo pasar una corriente de oxígeno por la sangre, ésta recobra el Δ casi normal en las primeras, porque expulsa el exceso de CO_2 (PACE), mas no en las segundas. Se ha observado a veces un Δ elevado en la diabetes sacarina y en la diabetes insípida, así como en la apoplejía, en la eclampsia, etc.

Se encuentran valores bajos del Δ en el embarazo (0,54°-0,55°) y en varias caquexias (carcinoma, anemia perniciosa, etc.).

El valor clínico-diagnóstico del Δ de la sangre se reduce bastante por las consideraciones hechas acerca de la efectividad de las compensaciones extrarrenales, y en realidad existen enfermedades renales evidentes, en las cuales el Δ de la sangre ha permanecido siempre constante y normal. El Δ de la orina está actualmente reemplazado en parte por la investigación, mucho más cómoda, del peso específico y por las dosificaciones químicas más exactas; puede tener valor la investigación comparativa del Δ en la orina de los dos riñones recogida separadamente por cateterismo ureteral, en casos de afección unilateral del riñón (1).

Investigaciones recientes ponen en evidencia la importancia que el sistema nervioso tiene en la regulación osmótica. En efecto, con los datos expuestos hasta ahora podemos discurrir así: admitamos que los mecanismos renales y extrarrenales sean capaces de compensar los trastornos de la osmoisotonía que se producirían continuamente por efecto de la misma actividad funcional de los órganos; pero ¿cómo advierte el organismo la amenaza de una alteración osmótica? ¿Por qué vías o qué medios el riñón, por ejemplo, se informa de la necesidad de concentrar o diluir la orina? Puede suponerse que el trastorno osmótico más ligero represente un estímulo para muchas

(1) Se encuentran muchos datos más antiguos, pero siempre interesantes, en: VIOLA, *Riv. veneta di Scienze mediche*, año XVIII, fasc. 8, 1901; BOTTAZZI y ONORATO, *Arch. di Fis.*, I, 1904; SABBATANI, *Journal de Phys. et de Pathol. gen.*, vol. III, n.° 6, 1901.

células, pero quizá existan *vías* especiales de sensibilidad osmótica. SCHADE ha sostenido con buenos argumentos la hipótesis de que los corpúsculos de PACINI son una especie de pequeños osmómetros perfectísimos, capaces de señalar el estado de la presión osmótica en los tejidos periféricos. Su estructura lamelar, quizá la naturaleza de membranas semipermeables de las laminillas, la forma y disposición del cuerpo interno, son pruebas a favor de esta función de los corpúsculos de PACINI, cuya extremada abundancia, por ejemplo en el mesenterio no se comprende si sólo fuesen órganos de sensibilidad bárica o de una forma cualquiera de sensibilidad profunda. Las impresiones osmóticas serían transmitidas por los nervios sensoriales (vías especiales?) a los centros nerviosos que regulan la eliminación de agua y sales, que sabemos existen en el suelo del cuarto ventrículo, en medio de los cuerpos restiformes, en la *formatio reticularis* y, por lo tanto, no lejos del centro regulador del metabolismo del azúcar, descubierto por CLAUDIO BERNARD.

Según ASCHNER (1) y según BRUGSH y sus colaboradores (2), se encuentran también centros bulbares *diferentes* para la secreción del agua y para la de las sales. Pero por encima de éstos existen seguramente centros superiores, probablemente en el cerebro intermedio, y precisamente en el hipotálamo, que regulan de una manera *coordinada* y perfecta los recambios hídrico y salino engranando así en el mecanismo de la osmorregulación. Pueden existir vías eferentes en el simpático y en el parasimpático, los cuales se ha visto que inervan muchos órganos relacionados con la osmorregulación (principalmente el riñón).

La *homoisotonía* u *homoosmia* es una antigua adquisición filogénica, pero no propia de todos los animales. En los invertebrados y, entre los vertebrados, en los peces cartilaginosos (elasmobranquios) el líquido circulante que constituye el medio interno principal no tiene una presión osmótica constante e independiente de la del medio: tienen el mismo Δ del agua en que vive el animal. Remitiendo para más detalles a los trabajos y a la síntesis de BOTTAZZI, diremos solamente que, por ejemplo en muchos crustáceos marinos, en los selacios, etc., se ha encontrado un Δ de la sangre comprendido entre $-2{,}25°$ y $-2{,}30°$ (agua marina con $\Delta = -2{,}30°$); mientras que en los animales de aquellas clases y de otras, como los moluscos, etc., de agua dulce se han hallado valores de Δ bajísimos, como, por ejemplo, de 0,2° en el *Anodonta cignea* (molusco).

En los peces teleósteos comienza a aparecer un Δ independiente del medio externo; pero para muchos de éstos la independencia no es absoluta, sino que varía según el Δ de los distintos mares. No es imposible que existan modificaciones de las necesidades osmóticas que influyan en la migración de los peces marinos hacia los ríos, y viceversa, según los períodos de desarrollo. En todos los demás vertebra-

(1) *Pflüger's Arch. f. d. ges. Physiol.*, vol CXLV.
(2) *Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Ther.*, vol. XXI.

dos (comprendiendo los anfibios: Δ de la sangre de rana = —0,46°, mientras que el agua de los estanques tiene un Δ — —0,03° o de —0,02°) hay una constancia y una independencia absoluta y necesaria de la presión osmótica del medio interno; las células corpóreas, diferenciando y afinando sus funciones, se han habituado a un medio cuyo Δ permanece constante, y experimentan primero como un estímulo, y luego como un daño irreparable por cualquier modificación de esta propiedad químico-física del medio, de la misma manera que (desde las aves en adelante) se han adaptado filogénicamente a una temperatura constante y a otras constantes químicas y químico-físicas. En el desarrollo ontogénico de los vertebrados superiores parece también que haya un aumento progresivo de la homoosmia; el Δ de la sangre del recién nacido no posee la constancia absoluta que se observa en el adulto, y en éste presenta menos fácilmente que en el primero pequeñas modificaciones relacionadas con la alimentación, pérdidas de agua, etc. (1).

b) Reacción de la sangre y de los tejidos. Teoría de la acidosis.

Como el protoplasma se compone principalmente de coloides, se comprende que sea muy sensible a las más pequeñas variaciones del contenido iónico del plasma o de la linfa en que viven las células. Los iones más activos para modificar el estado coloidal de los albuminoides celulares son seguramente los iones H y los OH, lo cual se expresa diciendo que la *reacción* (ya definida en la Parte I) del medio y del protoplasma tiene una enorme importancia para el desarrollo de las funciones de las células, tanto para su vida como para su muerte. La *eucoloidalidad* del protoplasma va unida a la permanencia de una concentración determinada de iones H y, por lo tanto, de iones OH y precisamente de una concentración que se aleja poco de la neutralidad, en sentido de la alcalinidad (los iones OH exceden, pues, ligeramente a los iones H). El punto neutro del agua a 38° (temperatura interna del cuerpo de los mamíferos) corresponde a una concentración de iones H de $1{,}6 \cdot 10{,}^{-7}$ es decir que equivale a 0,00000016 gr. de iones H en un litro (a la que corresponde una concentración igual de $1{,}6 \cdot 10^{-7}$ de iones OH que, siendo el peso de OH = 17, equivalen precisamente a $17 \times 0{,}00000016$ gr. de iones OH por litro). A dicha temperatura de 38° la sangre tiene una concentración de iones H que corresponde, según los resultados medios hallados por muchos autores, a $0{,}45 \cdot 10^{-7}$; está claramente situada por debajo de la del agua pura (la concentración en iones OH debe estar por encima de la de ésta para que el producto de $H^{\bullet} \times OH'$ sea siempre constante). o sea que se desvía hacia una leve alcalinidad. Si adoptamos la notación de Sörensen, tendremos para la sangre pH = 7,35, medido a 37°. Haciendo las determinaciones a 18°, la sangre tiene por término medio $[H^{\bullet}]_{18°} = 0{,}29 \cdot 10^{-7}$ y, por lo tanto, pH = 7,56. Recordemos que el punto neutro a 18° es pH = 7,09.

(1) Hagner, *Zeitschr. f. Kinderheilk.*, vol. VIII, n.° 1, 1913.

La constancia de esta característica químico-física tiene una enorme importancia: un ligerísimo exceso de iones H o de iones OH, es decir, una ligera desviación de la reacción débilmente alcalina del medio orgánico en el sentido de una acidificación o de una alcalinización superior, iría seguida de graves transtornos de la vida celular. Las células aisladas son muy sensibles a las más pequeñas variaciones de la reacción actual del medio, como puede demostrarse por la simple observación al microscopio (de leucocitos, hematíes, derivados celulares como las plaquetas, etc.). Hasta las bacterias, dotadas de una gran capacidad de adaptación, se resienten con gran delicadeza de las variaciones de la reacción, y uno de los problemas de la Bacteriología es ajustar el pH del terreno de cultivo a las exigencias de cada especie bacteriana, si se quieren obtener cultivos vigorosos. Los órganos de los animales superiores, aislados y conservados por perfusión, poseen también una sensibilidad extremada desde este punto de vista: el corazón de los mamíferos es un reactivo muy sensible a la concentración en iones H del líquido de perfusión (Spadolini y otros): el intestino del conejo tiene un *óptimum* de motilidad en un líquido con $[H^{\bullet}] = 0{,}5 \cdot 10{,}^{-7}$ es decir, apenas alcalino y de reacción casi igual a la de la sangre del animal, mientras que desviaciones de $[H^{\bullet}] = 0{,}25 \cdot 10^{-5}$, o sea hacia una débil acidez, o de $[H^{\bullet}] = 0{,}15 \cdot 10^{-8}$, esto es, hacia una alcalinidad más acentuada, detienen por sí solas los movimientos. A propósito de esto, citemos la siguiente ley general: los aumentos de la concentración en iones H respecto a la habitual, determinan en las células una disminución de los fenómenos de oxidación y, por lo tanto, un acúmulo en los tejidos y en la sangre (si se trata de organismos superiores) de productos de combustión incompleta, que, siendo de naturaleza ácida, tienden a agravar el desequilibrio iónico en este sentido; en cambio, los aumentos de iones OH, mientras no sobrepasen ciertos límites, tienen un efecto excitante de las oxidaciones intraorgánicas. Los álcalis (en pequeña cantidad, por supuesto) son menos nocivos para la vida celular que los ácidos, y hasta pueden representar una causa de exaltación de los procesos de oxidación, como Warburg observó con los huevos de animales marinos (Cap. II).

La reacción débilmente alcalina de la sangre normal se encuentra también en otros líquidos orgánicos internos: líquido céfalo-raquídeo, líquido amniótico, lágrimas, etc. La leche de mujer y de burra tienen $[H^{\bullet}] = 0{,}2 \cdot 10^{-7}$, son, pues, un poco más alcalinas que la sangre; la de vaca es un poco más ácida, teniendo $[H^{\bullet}] = 1{,}5 \cdot 10^{-7}$, mientras que la sangre de estos animales presenta valores aproximadamente iguales. Citemos también los siguientes valores para la linfa de perro; $[H^{\bullet}] = 0{,}15 \cdot 10^{-7}$; para la bilis se han hallado valores que varían bastante desde $0{,}13 \cdot 10^{-7}$ a $3 \cdot 10^{-7}$; para la saliva, $1{,}2 \cdot 10^{-7}$ (por lo tanto apenas es ácida: véase Sección I). La concentración en iones H de

los jugos de varios órganos tiene valores que, por regla general, son más elevados que en la sangre; esto ha sido confirmado por las investigaciones de SCHADE, NEUKIRSCH y HALPERT (1), quienes con una aplicación especial del método electrométrico pudieron medir el pH (mediante electrodos de aguja) en los tejidos del hombre y del animal vivo, encontrando para los tejidos normales valores de pH = 7,10 hasta 7,40, correspondientes aproximadamente a $[H^{\bullet}] = 0{,}65 \cdot 10^{-7}$ como término medio aproximado, y que, por lo tanto, están desviados respecto a la sangre hacia una alcalinidad menor, lo cual correspondería al hecho de que muchos productos de la vida celular tienen carácter ácido. Indiquemos solamente que en los tejidos inflamados se encuentran valores mucho más desplazados hacia la acidez, valores de pH entre 6,9 a 5,9. En general, los exudados tienen una gran concentración de H-iones, que a veces es altísima, hasta $8{,}7 \cdot 10^{-7}$ e incluso de $25 \cdot 10^{-7}$, como sucede en el pus de los abscesos calientes. Algunos jugos digestivos difieren mucho de la sangre: el jugo gástrico en el sentido de la acidez, y el pancreático y el intestinal en el de la alcalinidad. La orina tiene un valor más variable, pudiendo encontrarse cifras de $[H^{\bullet}] = 2{,}34 \cdot 10^{-5}$; $0{,}56 \cdot 10^{-5}$ (nefritis); $1 \cdot 10^{-7}$ (régimen vegeteriano en personas normales), etc. El riñón es también un regulador de la concentración en iones $H^{\bullet}$ y OH de la sangre, como veremos; entre la secreción de ácidos y de bases por el riñón, de una parte, y los jugos digestivos, por otra, existen íntimas relaciones, con el fin de compensar y mantener la constancia del pH de la sangre (así, una intensa secreción ácida o hiperácida del estómago hace alcalina la orina). Véase también la Sección III.

Las nociones que se acaban de exponer sobre la débil reacción alcalina de la sangre contrastan aparentemente con lo que siempre se ha admitido acerca de una fuerte alcalinidad de la sangre y de otros líquidos orgánicos, basandose en los resultados de la *valoración volumétrica*. En efecto, el plasma de la sangre tiene reacción alcalina respecto a la tintura de tornasol, y si queremos hacer virar el indicador hacia la acidez, debemos añadir cantidades considerables de un ácido fuerte. Por otra parte, la sangre tiene reacción ácida a la fenolftaleína, y si queremos enrojecer este indicador por adición de álcalis a la sangre (plasma o suero), debemos añadir también cierta cantidad de ellos. La sangre tiene una *notable alcalinidad por volumetría*, pero, cosa singular, no es ni siquiera netamente alcalina respecto al indicador más a propósito para revelar la alcalinidad en la acepción corriente en la antigua Química, porque todavía es capaz de admitir álcali antes de hacer virar la fenolftaleína hacia la alcalinidad.

¿Cómo se explican estas contradicciones aparentes? Se explican diciendo que la sangre es muy rica en aquellas substancias que la Química física moderna llama *substancias reguladoras* o *amortiguadoras* (*Puffer* de los alemanes), que merecen un rápido esbozo.

(1) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXIV, 1921.

Supongamos que se añade al agua una cierta cantidad de ácido clorhídrico: tendremos una acidez correspondiente al grado de disociación iónica de este ácido, y, por lo tanto, elevada. Si en el agua se encuentra ya una sal de un ácido débil, por ejemplo acetato de sodio, la acidez de la solución de HCl en acetato sódico y agua será bastante menor que la acidez del HCl en agua pura. En efecto, el ácido acético es un ácido débil, unas 125 veces menos disociado que el HCl; por lo tanto, los acetationes $(C_2H_3O_2)'$ tienen escasa tendencia a permanecer como tales y procuran unirse con iones H para formar moléculas indisociadas de ácido acético. En la mezcla de acetationes, iones H, iones Na, iones OH y iones Cl, tendremos que un buen número de iones H serán retenidos por los acetationes y la concentración final y total de iones H será mucho menor (125 veces menor) que en el caso de la simple solución de HCl en agua. Empleando el lenguaje de la antigua Química, podría decirse que cuando se echa HCl sobre acetato sódico, el ácido fuerte sustituye al débil y se forma cloruro sódico y ácido acético: la acidez final es, pues, la de este último y no la del HCl. También podría explicarse el fenómeno de la manera siguiente: el acetato sódico está disociado *hidrolíticamente* en ácido acético e hidrato sódico; la adición de HCl es neutralizada en gran parte por la presencia de la base fuerte (NaOH). En este último caso, pues, el acetato sódico ha *amortiguado* la acidez derivada del ácido clorhídrico, y se puede decir que la sal ha actuado de *sal amortiguadora* respecto al ácido (*buffer-salt* de los ingleses, *Puffersalz* de los alemanes y *sel tampon* de los autores franceses).

La sangre contiene numerosos cuerpos capaces de actuar de esta manera: un sistema importante de sales amortiguadoras lo forman los fosfatos de la sangre (sistema fosfato monosódico-fosfato disódico) y otro es el sistema del bicarbonato y carbonato sódicos. Finalmente, las mismas proteínas obran como reguladoras, como electrólitos anfóteros, capaces de disociar iones H o iones OH, y, por lo tanto, de actuar de ácidos uniéndose a las bases, o de bases uniéndose a los ácidos, por lo cual la amortiguación debida a las proteínas es válida en los dos sentidos, tanto contra los ácidos como contra las bases añadidas a la sangre. Se comprende que con esta cantidad de sales amortiguadoras (también las proteínas se comportan como reguladores, salificándose) el plasma sanguíneo modifique difícilmente su reacción cuando se le añaden ácidos o bases, y que esté especialmente protegido contra el exceso de acidez. Efectivamente, si tomamos suero, le añadimos fenolftaleína y después álcali gota a gota, se observa que, para llegar a un determinado grado de enrojecimiento, se necesita por lo menos 40 veces más álcali que el que sería necesario si en lugar de suero hubiésemos tomado agua pura; además, y esto todavía es más sorprendente, si medimos separadamente cantidades iguales de agua y suero, les agregamos anaranjado de metilo como indicador y luego dejamos caer un ácido gota a gota, se ve que, para obtener un determinado viraje del indicador, se necesitan con el suero unas 327 veces más de

ácido que con el agua. Puede decirse que estos líquidos orgánicos oponen una gran resistencia a las modificaciones de la reacción. La disparidad notable entre la reacción actual, iónica — que es casi neutra y sólo debilísimamente alcalina, como puede comprobarse por los métodos electrométricos — y la reacción por valoración volumétrica, que se revela fuertemente alcalina cuando se valora el suero con un ácido empleando el tornasol — es debida a la presencia abundante de cuerpos amortiguadores que representan, por decirlo así (SCHADE), como una provisión abundante de iones H y iones OH *potenciales*, que son puestos en actividad a medida que se necesitan para neutralizar bases o ácidos añadidos a la sangre. La reacción por valoración con un ácido no ha perdido su valor clínico por efecto de estas modernas adquisiciones; solamente ha cambiado su significación; no es ya la verdadera reacción de la sangre lo que se mide, sino la resistencia de la sangre a cambiar de reacción, la provisión de iones OH potenciales, la capacidad de la sangre para neutralizar ácidos fijos y, por lo tanto, la *reserva alcalina* de la sangre, que tiene también importancia porque es uno de los medios de que se sirve el organismo para resistir a la invasión de los productos ácidos del metabolismo. En muchas enfermedades (caquexias, anemias, infecciones, diabetes) hay una *reducción de la alcalinidad total* del suero o del plasma, determinada por valoración con un ácido fuerte. VERNONI (1) ha resumido las más antiguas investigaciones sobre esta cuestión, y ha encontrado, por otra parte, un *aumento* de esta alcalinidad en los suero de caballo recientemente sometidos a las inyecciones inmunizantes de toxina tetánica, y una *disminución* a medida que avanza el tratamiento.

Durante la gran guerra, WRIGHT concedió importancia a la medida de esta reserva de álcalis (por un método sencillísimo; hacer diluciones crecientes de H_2SO_4 y suero en partes iguales, y determinar con el papel de tornasol la concentración mínima de ácido que basta para hacer desaparecer la reacción alcalina del suero) en el shock operatorio, en las infecciones por gérmenes gasógenos, etc., estados en los cuales existiría una disminución de la alcalinidad por valoración volumétrica.

Volvamos ahora a la reacción actual o iónica de la sangre en el ser vivo: cuando se determina por métodos exactos, que eliminan ciertas causas de error (4), es sorprendentemente constante, hasta en

(1) *Bullet. Scienze med.*, Bolonil, 1919-1920.

(2) La principal de estas causas de error consiste en la pérdida imposible de evaluar de CO_2 (acidificante) durante la extracción y manipulación de la sangre, por lo cual se ha propuesto hacer la determinación electrométrica de la concentración en H-iones en la sangre completamente privada de CO_2 (HÖBER. *Deutsche med. Woch.*, 1917, n.° 18) o, mejor, en la sangre mantenida a una presión constante y notable de CO_2, que sea perfectamente conocida; por ejemplo, a 40 mm. de Hg (= 5,6 % de CO_2), como hace HASSELBACH (*Bioch. Zeitschr.*, vol. XLIX) y como aconsejan SCHADE y sus colaboradores. Este método elimina la influencia compensadora que, como veremos, tiene el CO_2, volátil, respecto a los ácidos fijos, no volátiles, y da un

los estados morbosos en los cuales era costumbre oír hablar de acidosis: he aquí algunos valores de pH (determinados a 18°-20°) en varias enfermedades, según SCHADE y según MICHAELIS (1):

Coma diabético *in extremis*	7,12
Nefritis crónica	7,56
Ictericia catarral	7,57
Carcinoma	7,62
Tifoidea	7,60
Enfermedad de Basedow	7,62
Diabetes sin acetona	7,66
Pneumonía (fiebre de 40°)	7,72
Pneumonía después de la crisis	7,69
Infección séptica	7,71

Hasta en las enfermedades en las cuales está químicamente demostrada la presencia en la sangre de productos ácidos del metabolismo (cuerpos cetónicos), es muy difícil encontrar valores de pH que se alejen algo considerablemente de los normales antes citados. Incluso la inyección intravenosa de ácidos fuertes en los animales de experimentación, sólo modifica ligeramente la reacción iónica, y apenas aparece una modificación un poco marcada sobreviene la muerte.

La constancia de la reacción actual, la *H-OH-isoionia*, como la llama SCHADE, es una condición evidentemente del todo esencial para el protoplasma, todavía más que la isotonía osmótica; es ciertamente una adquisición más antigua filogénicamente, porque hasta los organismos unicelulares son muy sensibles a las modificaciones de la reacción. Esta exigencia de los tejidos se debe tener en cuenta al preparar las llamadas soluciones fisiológicas. Así, RHODE y SAITO (2) indican un procedimiento para preparar soluciones del tipo de la solución de TYRODE (véase párrafo siguiente), pero con una concentración bien determinada de iones H.

El mecanismo de esta constancia en el *equilibrio entre ácidos y bases* en los líquidos orgánicos circulantes es muy compleja, pero actualmente está bastante aclarada. Los factores fundamentales de esta importantísima regulación son:

1.° *Factores intrínsecos* de la misma sangre (así como de los líquidos intersticiales, linfa, etc.): la acción de las sales amortiguadoras (carbonatos y fosfatos) ya citadas y de las proteínas que obran como reguladoras de una manera análoga, como también se ha dicho.

valor *no compensado* o *reducido* (HASSELBACH) del pH, que revela pequeñas diferencias debidas precisamente a la mayor o menor cantidad de ácidos fijos, que de otra manera no aparecerían: así, revela que hay un pH *reducido*, algo distinto en la sangre según el régimen. HASSELBACH encontró que con régimen vegetariano se obtiene $[H] = 0{,}38 \cdot 10^{-7}$; con régimen cárneo $[pH] = 0{,}47 \cdot 10^{-7}$; por lo tanto, está confirmada de una manera exacta la acción acidificante del régimen cárneo y la alcalinizante del vegetariano (véase en la página 278 las aserciones refutables de KESTNER).

Otros métodos, para determinar la reacción iónica de la sangre, se deducen de las consideraciones que luego expondremos sobre la *acidosis* en el sentido moderno.

(1) *Handb. d. Bioch.* de OPPENHEIMER, Ergänzungsb.

(2) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXXVIII, fasc. 4-6.

Además tenemos en la sangre una acción reguladora de los glóbulos rojos, debida a las propiedades débilmente ácidas de la hemoglobina, que puede combinar álcalis en competencia con el CO_2; también intervienen los cambios de iones (especialmente Cl′ y OH′) entre los corpúsculos y el plasma, según la tensión del CO_2, como ya hemos indicado en el capítulo III, *b*) y como se encuentra ampliamente expuesto en los trabajos de HAMBURGER (1) de FRIDERICIA, de HAGGARD y de Y. HENDERSON (2). Son cuestiones complicadísimas y aun no del todo claras. De todos modos, parece que el plasma y el suero se comportan en el mantenimiento de la reacción de una manera un poco distinta de la sangre completa.

2.° *Factores extrínsecos*, que no son demostrables en la sangre *in vitro*, sino que sólo actúan sobre este líquido en el animal vivo. Consisten en la acción de varios órganos que retienen o eliminan ácidos o bases según las necesidades de la isoionía. Así el *hígado* que, como órgano central de la desaminación de los aminoácidos, fabrica urea con el NH_3 resultante, pero que si se acumulan ácidos en el organismo puede proporcionar NH_3 para la saturación de éstos, reduciendo correlativamente la fabricación de urea. Efectivamente, una de las consecuencias de la excesiva formación de ácidos en el organismo o de la introducción de ácidos del exterior, es el aumento de la eliminación urinaria de amoníaco (unido a los ácidos en exceso) con la disminución consiguiente de la urea. Pero todavía es más importante la *función renal;* el riñón elimina más valencias ácidas o básicas según que en el organismo se acumulen las primeras o las segundas; compensa, pues, el exceso de pérdidas de valencias ácidas (como en la hiperclorhidria gástrica) con una menor eliminación urinaria de éstas o con eliminación de valencias alcalinas, y adapta su función en este sentido a las necesidades de la constancia del equilibrio entre ácidos y bases en la sangre. Los fosfatos ácidos, por ejemplo el fosfato monosódico NaH_2PO_4, que reacciona como ácido, son los que especialmente comunican la acidez a la orina y representan las valencias ácidas que se han de eliminar, mientras que el fosfato disódico Na_2HPO_4, que tiene reacción alcalina, y el NH_3 representan las valencias básicas. Las recientes investigaciones de Y. HENDERSON y sus colaboradores (3), y las de HAGGARD y Y. HENDERSON (4), incluso permiten admitir que el *recambio de álcalis entre los tejidos y la sangre* pueda representar un papel notable en esta regulación: la sangre reclamaría álcalis a los tejidos si llegasen ácidos a la primera que amenazasen la constancia de su pH, y emigrarían álcalis hacia los tejidos en caso de descenso de las valencias ácidas de la sangre. En tal caso la membrana endotelial de los capilares tendría una gran importancia. Debemos considerar actualmente como todavía oscuros los medios que posee

(1) *Bioch. Zeitschr.*, vol. LXXXVI.
(2) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XLII y XLV.
(3) *Journ. of Amer. med. Assoc.*, vol. LXXVII, 1921.
(4) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XXXIII, XXXVIII, XXXIX, XLIII.

el organismo para percatarse de las necesidades en iones OH y en iones H, y que le inclinan a adoptar el proceso de eliminación renal o el de recambio con los tejidos.

Actualmente estamos mucho mejor informados acerca de un mecanismo extrínseco y eliminador, que hemos dejado para el final por ser importante hasta por los métodos diagnósticos que sugiere: es éste el *pulmonar*

La sangre contiene CO_2 disuelto en forma de H_2CO_3, ácido debilísimo y volátil que la sangre elimina con gran facilidad por la superficie pulmonar: este ácido contribuye a mantener el equilibrio, pues si llegan a la sangre ácidos cualesquiera, inmediatamente aumenta la ventilación pulmonar y con ella la eliminación de CO_2, de manera que la suma total de valencias ácidas, de ácidos fijos y ácido volátil (CO_2) vuelva a la normal. El centro respiratorio es, en realidad, el supremo regulador de este equilibrio hematopulmonar y, por lo tanto, del equilibrio entre ácidos y bases en la sangre: este centro, según la teoría desarrollada por HALDANE y PRISTLEY (1) por WINTERSTEIN (2) y HASSELBACH (3), y actualmente aceptada, es muy sensible a todas las modificaciones de la concentración en iones H de la sangre que lo baña, tanto que se ha dicho que los iones H son la hormona específica del centro respiratorio. Dejemos aparte la cuestión suscitada por PI y SUÑER (4) de si también las terminaciones periféricas del vago poseen una sensibilidad especial para el CO_2, que, sin embargo, sería más una sensibilidad electiva para este gas que para los iones H, en general (5), y atengámonos a la teoría de la regulación química *central* de la respiración, que actualmente se considera como bien fundamentada. Se admite, pues, generalmente que la riqueza del CO_2 en la sangre es, en cierto modo, el indicador de su contenido en ácidos fijos; como la tensión de este gas en la sangre que circula por el pulmón se pone rápidamente en equilibrio con la tensión del mismo CO_2 en el aire alveolar, se comprende que para estudiar el equilibrio de los ácidos y de las bases en la sangre se puede también recurrir al análisis del aire alveolar. Un descenso de la tensión del CO_2 en el aire alveolar debe indicar una alteración en el sentido acidótico, o sea la llegada a la sangre de ácidos que han reducido de una manera correspondiente el contenido en CO_2; mientras que un aumento en la tensión del CO_2 en el aire alveolar indicaría una reducción de los ácidos fijos en la sangre y, por lo tanto, un aumento de la capacidad de este líquido orgánico para fijar el CO_2. Pero las cosas no son tan sencillas: hay que recordar que L. I. HENDERSON (6) ha demostrado que existe cierta relación entre la concentración de iones H en la sangre, la proporción de CO_2 libre y disuelto

(1) *Journ. of Physiol.*, vol. XXXII.
(2) *Pflüger's Arch.*, vol. CXXXVIII.
(3) *Bioch. Zeitschr.*, vol. XXXVIII, XLVI, XLIX.
(4) *Journ. de Physiol. et de Pathol. génér.*, t. XVIII-XIX.
(5) PIRAS, *Arch. d. Fisiol.*, vol. XX, fasc. 5.°, 1922.
(6) *Ergebn. d. Physiol.* de ASCHER y SPIRO, vol. VIII, 1909.

y la de CO_2 combinado especialmente como bicarbonato sódico. He aquí la fórmula de L. I. HENDERSON:

$$\frac{[H_2CO_3]}{[NaHCO_3]} = \text{const} \times [H^+].$$

Esta fórmula dice que, así como la concentración de iones H, esto es, el segundo miembro de la ecuación, debe permanecer constante (so pena de alteraciones incompatibles con la vida), también ha de conservarse constante la relación entre el CO_2 disuelto (en forma de H_2CO_3) en la sangre o, lo que es lo mismo, contenido en el aire alveolar, y el CO_2 combinado con los carbonatos o en forma de carbonatos (álcalis fijos, *reserva alcalina* de la sangre). Cada vez que en el primer miembro de la ecuación se modifica el numerador en un sentido determinado inmediatamente debe modificarse el denominador en el mismo sentido, para mantener constante [H•], es decir, la reacción actual. Corresponde al centro respiratorio equilibrar el numerador con el denominador de manera que se obtenga una relación constante: normalmente la relación entre el CO_2 libre y el CO_2 combinado (o entre la tensión del CO_2 en el aire alveolar y la reserva alcalina) es como 3 : 60 («CO_2-ratio» de HAGGARD y Y. HENDERSON) (1), y *debe* ser constante, aunque varíen los valores absolutos, en cualquier condición no patológica. En circunstancias patológicas la comparación de la medida de la tensión del CO_2 en el aire alveolar y la de los álcalis de reserva en la sangre nos podría ilustrar acerca de las variaciones de la concentración en iones H. En este momento podemos decir qué es lo que actualmente debe entenderse por *acidosis;* una acidosis en el sentido de un verdadero aumento de la concentración de los iones H es rara, aun cuando algunas veces ha sido observada, por ejemplo, en los períodos terminales del coma diabético (así, existe una ligera acidosis en este sentido en el primer caso citado en la tabla de la página 461). Más comúnmente la acidosis consiste en la aparición de ácidos fijos en la sangre, tales como los productos metabólicos de carácter ácido (cuerpos cetónicos, etc.) que retienen una parte mayor o menor de los álcalis de reserva y reducen correlativamente la capacidad de la sangre para fijar CO_2. Entonces, como los ácidos fijos que llegan a la sangre aumentan la concentración de los iones H, el centro respiratorio señala en seguida el peligro y procede a expulsar CO_2 inmediatamente, de manera que aquella concentración permanezca constante por compensación del exceso de ácidos fijos por una menor cantidad de CO_2 o ácido volátil (por lo cual la tensión del CO_2 en los alvéolos pulmonares se encuentra reducida). En tal caso se habla de *acidosis compensada*, que no es más que una reducción de la reserva alcalina (llamada *hipocapnia*), y se hablaría de *acidosis no compensada* si se produjese un aumento real de la concentración de iones H, como sucedería, por ejemplo, si se formasen ácidos con tal abundancia que paralizasen este mecanismo regulador.

(1) *Journ of biol. Chem.*, vol. XLIII, n.° 1, 1920.

Existen métodos, utilizables clínicamente, para determinar el estado de acidosis más o menos compensada, a pesar de la fijeza de la concentración en iones H y que evitan esta determinación, siempre difícil y que requiere medios y competencia especiales. Algunos de estos métodos se basan en valorar el poder de fijar CO_2 que ofrece la sangre cuando es puesta en contacto con CO_2 a una tensión constante y notable, por ejemplo: con una atmósfera que contenga un 5 % de CO_2; cuanto menos CO_2 fije la sangre tanto mayor es la cantidad de ácidos fijos que contiene y, por consiguiente, tanto menor es la disponibilidad de álcali (MORAWITZ y WALKER) (1).

VAN SLYKE y CULLEN (2), STADIE y VAN SLYKE (3) han empleado métodos parecidos basados en la determinación del CO_2 en la sangre venosa recogida fuera del contacto del aire y mantenida en contacto con el aire alveolar del pulmón del operador o con una atmósfera artificial con un 5,5 % de CO_2 (4): en el apéndice técnico describiremos el último método de V. SLYKE para la determinación de la *capacidad* de la sangre *para el* CO_2. También STRAUB y MEIER, fundándose siempre en este principio, proponen el estudio de las curvas que resultan de la capacidad de fijación que posee la sangre para el CO_2, en presencia de tensiones *variables* del mismo CO_2 (5).

Se han llevado a cabo muchas investigaciones fundadas en la determinación de la tensión parcial del CO_2 en el aire alveolar (véase párrafo *e* del Cap. III); un aumento indica una modificación en sentido alcalótico, y una disminución es señal de que el recambio se inclina en sentido acidótico. Sin embargo, esta sola determinación no sirve para mucho, y debe ser completada por la determinación de los álcalis de reserva o, mejor, del pH. Aun es más sencillo el método de ROHONYI (6) derivado de la consideración que, en el suero o en el plasma, el cuerpo que se combina con los ácidos es principalmente el $NaHCO_3$; según este autor, el plasma (oxalatado) se pone en equilibrio con una atmósfera de CO_2 a tensión aproximadamente constante (0,3 mm.), se desalbumina con alcohol y se valora el filtrado con HCl n/100, usando rojo de alizarina como indicador. ROHONYI llama *índice de carbonato* al número de centímetros cúbicos de HCl n/100 consumidos por 1 cc. de plasma, y que miden la proporción de bicarbonato, o sea de los álcalis de reserva que se intenta determinar para

(1) *Bioch. Zeitschr.*, vol. LX, 1914.
(2) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XXX.
(3) *Id.*, vol. XLIX.
(4) Extensa bibliografía en el trabajo de v. SLYKE en el vol. XXX del *Journ. of biol. Chem.*
(5) *Bioch. Zeitschr.*, vol. LXXXIX, CXXIV; *Deutsch. Archiv. f. klin. Med.*, vol. CXXXVIII, 1922.
(6) Véase exposición y aplicación al estudio de la acidosis gravídica, en BOKELMANN y ROTHER, *Zeitschr. f d. ges. exper. Med.*, vol. XXXIII, fasc. 3-6, 1923.

los usos clínicos. Evidentemente este método no puede servir más que como vaga orientación.

Las *acidosis compensadas* son frecuentes; durante mucho tiempo se ha admitido que se presentaba en la sangre una acidosis de este tipo como consecuencia de cualquier insuficiencia temporal, absoluta o relativa, del aporte de oxígeno (anoxemia), como sucede en la respiración de aire enrarecido, por la vida en la alta montaña, a consecuencia del trabajo muscular intenso (formación de ácido láctico), etc. Pero actualmente dominan ideas distintas sobre este punto: HAGGARD y I. HENDERSON (1) han encontrado que la inyección de ácido láctico no produce acidosis, sino que determina una hiperventilación pulmonar precoz, reducción del CO_2 libre en la sangre y, por lo tanto, una tendencia a la disminución de la concentración de iones H, de la que se deriva alcalosis. Creen, basándose en sus experimentos, en los de varios autores americanos que asistieron a la ascensión del Pike's Peak en el Colorado y en otros argumentos, que la reducción del aporte de oxígeno (alta montaña, trabajo, etc.) conduce a la aparición en la sangre de un factor desconocido *(factor respiratorio* X, antagonista de la morfina) que, si es ácido, es un ácido debilísimo y recuerda en su acción la del éter durante los primeros períodos de la narcosis; excita fuertemente el centro respiratorio produciendo hiperventilación, disminución del CO_2 en la sangre y aumento de la reserva libre de álcalis; no es que se produzca acidosis, sino *alcalosis* que es sólo *temporal*, pues en la montaña, por ejemplo, desaparece con la aclimatación, como lo han demostrado HALDANE y sus colaboradores (2). Desaparece porque los álcalis, en exceso entonces en la sangre, pasan a los tejidos y son eliminados por la orina: HAGGARD y I. HENDERSON llaman a este estado *acapnia*, y lo consideran como un medio de re tablecerse la reacción de la sangre que atraviesa una alcalosis. Cuando, por el contrario, penetran en la sangre ácidos verdaderamente fijos, la nueva adaptación se realiza gracias al proceso ya descrito de acidosis compensadas, que puede desaparecer también si acuden álcalis de los tejidos. En un proceso de acapnia tan intenso como éste, y tambien en las acidosis hay, en un momento, dado una *reducción (hipocapnia) de la reserva alcalina de la sangre;* pero en la acapnia esta reducción es *secundaria* y representa el remedio de la alcalosis, que de otro modo se prolongaría, mientras que en la acidosis la reserva alcalina es reducida primitivamente.

Corresponde a Mosso (3) y a su escuela el mérito de haber llamado la atención acerca de la importancia de la reducción del CO_2 atmosférico, y, por lo tanto, del estado de tensión insuficiente de CO_2 en la sangre para explicar el mal de montaña. Mosso adoptó el término de *acapnia* para expresar tal estado de *déficit* de CO_2 en la sangre. Actualmente se ha precisado mejor este término: la tensión del CO_2 en el aire alveolar está reducida en la montaña, en relación, sin embargo, con un estado alcalótico que desaparece con la aclimatación, cuando se vuelve a la relación normal entre el CO_2 libre y el CO_2 fijo. De todas maneras, los autores americanos confirman que las inhalaciones de pequeñas cantidades de CO_2 son útiles en los estados anoxémicos, cuando entra en juego el proceso de acapnia con alcalosis relativa (1), como en el mal de montaña y de los aviadores, etc., mientras que no podría ser así si lo trastornos fuesen de causa acidótica, porque con el aumento de CO_2 libre se eleva el pH de la sangre mientras no esté correspondientemente elevada la reserva alcalina (véase la fórmula de HENDERSON).

(1) Loc. cit.
(2) *Journ. of Physiol.*, vol. LIII.
(3) *Arch. ital. di Biol.*, 1903-1905.

Muchas investigaciones hechas para determinar la tensión alveolar del CO_2, con o sin determinación contemporánea del pH de la sangre, han conducido a resultados interesantes para el médico. Parece que existen *variaciones estacionales* de estas constantes: la tensión del CO_2 alveolar aumentaría en la primavera, mientras que [H·] disminuiría un poco: esto indicaría una leve alcalosis primaveral y proporcionaría una base a las antiguas tradiciones de la importancia de la primavera para algunas modificaciones orgánicas. En realidad, ciertas funciones hormónicas se modifican también en la primavera. Análogas modificaciones del equilibrio hemato-respiratorio existen después de las comidas (pérdida de ácidos por el jugo gástrico), según STRAUB y sus colaboradores (3), y en el sueño, según COLLIP (3). En el embarazo habría una tendencia acidótica, según HASSELBACH y GAMMELTOFT (4) y BOKELMANN y ROTHER (5). Más recientemente, estos últimos autores encontraron acidosis aun más acentuadas en las toxicosis gravídicas (6).

En muchas formas de nefritis existiría una reducción de la capacidad de la sangre para fijar CO_2 y, por lo tanto, una reducción de álcalis disponibles por la presencia de substancias ácidas circulantes (productos metabólicos retenidos?); pero no existe una igualdad de resultados en todas las nefritis. De todos modos, la disnea urémica parece estar, por lo menos en parte, en relación con un estado de acidosis y corresponde al esfuerzo del centro respiratorio para mantener el pH a un nivel normal contra la creciente entrada en la circulación de productos ácidos (disnea *hematógena)*, aumentando la ventilación pulmonar y expulsando CO_2: en efecto, se han demostrado tensiones bajas de este gas en el aire alveolar. Una cuestión bastante oscura es la que se refiere a la disnea de los cardíacos: PORGES, LEIMDORFER

(1) Acerca de la fisiología de la montaña y de la aviación, véase también: Mosso, *Fisiol. dell'uomo sulle Alpi;* AGAZZOTTI y GALEOTTI, *Giornale di med. militare*, 1919, fasc. I; HERLITZKA, *Fisiología e aviazione*, 1923, Zanichelli.
(2) *Deutsch. Arch. f. klin. Med.*, vol. CIX, CXVII.
(3) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XLI.
(4) *Bioch. Zeitschr.*, vol. LXVIII.
(5) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXXIII, fasc. 3-6, 1923.
(6) *Id.*, vol. XL, pág. 13, 1924.

y MARCOVICI (1) encontraron en varias formas de disnea cardíaca un descenso de la tensión del CO_2 alveolar, y sus resultados han sido confirmados (2). Se ha pensado, por lo tanto, que la disnea citada no era de origen pulmonar, por rigidez del pulmón en el sentido de v. BASCH, sino que es más probable que sea debida a acidemia y quizá a la formación de productos intermedios ácidos del metabolismo a consecuencia de las oxidaciones incompletas, debidas a su vez al estado de hipoxemia o deficiencia de la oxigenación. Pero generalmente no se ha encontrado en la sangre de los cardíacos que el poder de fijación de CO_2 esté disminuído, o sea una verdadera reducción de los álcalis de reserva. Si el álcali no fijo está modificado y el contenido en CO_2 ha bajado sin embargo, se debería admitir un estado de alcalosis de la sangre; pero esta conclusión no es fácilmente sostenible. En efecto —y quizá aquí está la clave de la discrepancia—, en los cardíacos, como quizá en ciertas enfermedades pulmonares, puede suceder que la tensión del CO_2 alveolar no corresponda a la de la sangre (véase también párrafo *c* del Cap. III) como PETERS y BARR (3) y KORNFELD (4) han observado en ciertos casos, sino que resulta notablemente más baja. Debería, pues, deducirse que en los cardíacos, a causa de los trastornos circulatorios, la medida de la tensión del CO_2 alveolar no corresponde ya a la medida del CO_2 de la sangre, y ésta puede cargarse de CO_2 que a su vez actúa sobre el centro respiratorio provocando la disnea, sin que esta sobrecarga vaya seguida de la reacción necesaria en el contenido del alvéolo pulmonar. Como dice KORNFELD, el descenso de la proporción de CO_2 del aire alveolar no es ya efecto de una acidosis, sino la expresión de un estado funcional anormal del pulmón. No hay que decir que en muchas formas pulmonares (bronquitis, enfisema) a causa de la mala ventilación pulmonar hay un aumento de la tensión del CO_2 en el alvéolo, sin ninguna relación directa con el equilibrio ácido-básico de la sangre.

Queremos también añadir que se ha dado el nombre de *centrógenas* a las formas de disnea que no se deben al aumento de la concentración en iones H de la sangre, que no son *hematógenas*, como muchas de las citadas, sino que son consecuencia de un aumento de la excitabilidad del centro respiratorio que reacciona con una actividad exagerada hasta cuando la concentración de iones H de la sangre es normal. El aumento le excitabilidad central podría estar en relación con el acúmulo de productos ácidos de metabolismo incompleto *en el mismo centro* mal irrigado y en el cual estarían dificultadas las oxidaciones: una disnea parecida podría ser la causa de la de muchos hipertensos, esclerósicos y hasta de los mismos cardíacos.

Hay que reconocer que las aplicaciones, no siempre racionales, de tantos y tan distintos métodos de investigación (no hay dos autores

(1) *Zeitschr. f. klin. Med.*, vol. LXXIII, pág. 389, 1911.
(2) PETERS y BARR, *Amer. Journ. of Physiol.*, vol. LIV, 1920-1921.
(3) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XLV, 1921.
(4) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXXVIII, fasc. 4-6, 1923.

que trabajen con el mismo método) ha introducido cierta confusión en este campo.

Notemos las diversas consecuencias de la acidosis y de la alcalosis para la economía orgánica en general: la primera disminuye la excitabilidad nerviosa, conduce al coma (diabético, quizá en parte del urémico); la segunda produce una hiperexcitabilidad neuromuscular.

Son bien conocidas las experiencias de GRANT y GOLDMANN (1) acerca de la *tetania por hiperpnea;* la hiperpnea (respiración voluntaria profunda y acelerada) conduce a una expulsión forzada de CO_2 de la sangre, a una alcalosis, con aumento de la alcalinidad de la orina y con fenómenos de tetania (sintomas típicos de TROUSSEAU, CVOSTEK, etc.); este interesante fenómeno es confirmado por varios autores (2). Se admite por algunos, como FREUDENBERG y GYÖRGY (3) que en la tetania infantil hay también una alcalosis, y proponen una terapéutica a base de ácidos (cloruro amónico, acidificante; también ciertas curas cálcicas obrarían por ser acidificantes), mientras que en el raquitismo puro, sin tetania, habría acidosis. Pero en estas afecciones infantiles la *disionia* respecto a H- o OH-iones, se complica con otra forma de disionia (Ca, K) de que hablaremos en el párrafo siguiente. Se ha descrito una acidosis en la encefalitis letárgica (4). Ya volveremos a hablar de la acidosis *febril* y de la *diabética;* en los períodos avanzados de esta última hay verdaderas elevaciones de la concentración de los iones H, que exceden del poder de compensación hemato-respiratorio. Además de los datos indicados más arriba, tenemos los más recientes de STRAUSS, POPESCU y RODOSLAV (5) obtenidos con el método de la determinación del poder de fijación del CO_2 en la sangre, que se pronuncian en favor de una verdadera acidosis no compensada, aunque ligera (pH = 7,1-7,2) en la diabetes grave.

c) EL EQUILIBRIO IÓNICO-SALINO EN LA SANGRE Y EN LOS TEJIDOS.

Para la *eucoloidalidad* del protoplasma, además de los H- y O H' iones tienen importancia otros numerosos iones, los de las sales, que en las células y en los líquidos que las bañan se encuentran en estado de mayor o menor disociación electrolítica. Del estudio de los componentes minerales de los organismos se deduce que estos iones más o menos capaces de influir en el estado de dispersión, el grado de imbibición y tantas otras propiedades de los coloides celulares —y, por lo tanto, en las manifestaciones funcionales de las células— son principalmente los siguientes: $Na^{\cdot}$, $K^{\cdot}$, $Ca^{\cdot\cdot}$, $Mg^{\cdot\cdot}$ entre los cationes y HPO''_4, H_2PO_4', Cl', SO_4'', CO_3'' entre los aniones.

(1) *Amer. Journ. of Physiol.*, vol. LII, 1920.
(2) Véase artículo de FRANK en: *Klin. Woch.*, 1922 n.° 7, sobre la tetania.
(3) *Klin. Woch.*, 1922, n.° 5 y 9, 1923 n.° 33.
(4) FURNO, *Sperimentale*, 1920, fasc. 1.° y 2.°
(5) *Deutsch. Arch. f. klin. Med.*, vol. CXLII 1923.

La mayor parte (cerca del 70-80 %) de las sales del plasma (página 401) se encuentran en estado de mayor o menor disociación iónica, y existen muchos argumentos para suponer que es la parte disociada, y no la existente en forma de moléculas en los líquidos orgánicos, la que tiene mayor importancia para las funciones celulares. Efectivamente, los iones son más activos que las moléculas sobre los coloides en general y particularmente sobre los biocoloides. Los datos acerca del contenido en sales del plasma, citados en el capítulo III, corresponden a la composición mineral resultante del análisis de las cenizas; pero en el plasma existe un estado de equilibrio complejo y lábil entre las *sales unidas a las proteínas*, por adsorción o verdadera combinación química, *sales disueltas en forma de moléculas* indisociadas y *sales disueltas en estado de disociación iónica*. Cuando practicamos un análisis químico calcinando el suero o la sangre e investigando después los componentes minerales en las cenizas, obtenemos los valores globales, que no dan ninguna idea acerca de la repartición de cada constituyente salino en los tres estados físico-químicos citados. La diálisis del suero nos da una idea, aunque imperfecta, de las condiciones reales, porque a medida que las sales disueltas atraviesan la membrana dializadora, se rompe el equilibrio preexistente y pasan en solución sales lábilmente unidas a las proteínas. Sólo la diálisis por compensación, introducida por MICHAELIS y RONA (1), da una idea exacta del verdadero estado de las sales en la sangre, si se encuentran libres o combinadas; en efecto, en este método se dializa el suero respecto a soluciones de distinta concentración de la sal cuyo estado en el suero se quiere saber, y se determina a qué concentración no hay paso de la sal de dentro a fuera del dializador, y viceversa: ésta será la concentración real de la sal libre, no combinada a las proteínas séricas. Comparando los resultados de este método con los del análisis químico de las cenizas, se ha visto que el cloruro de Na y de K, los fosfatos y los carbonatos están libres en su mayor parte, mientras que cerca de $^1/_3$ parte del calcio está unido a las proteínas. Sin embargo, este método no da idea de si las sales libres están disociadas electrolíticamente o no; pero esta condición químico-física puede averiguarse determinando la conductibilidad eléctrica del plasma, del suero o de los jugos de los tejidos correspondientes. Son en gran número las investigaciones sobre la conductibilidad eléctrica, que expresa el conjunto de todos los iones (hasta los coloidales) presentes en el líquido que se examina. Los trabajos de VIOLA (2), de BOTTAZZI (3), de GALEOTTI (4) son ya clásicos, pero no han conducido a resultados positivos en cuanto a aplicaciones clínicas, ni a un conocimiento más profundo del mecanismo patogénico de las enfermedades. VIOLA ha introducido el estudio de la *conductibilidad límite*, es decir, de la conductibilidad máxima

(1) *Bioch. Zeitschr.*, vol. XIV, XXI, XXIX, XXXI.
(2) *Rivista Veneta de Scienze mediche*, vol. XVIII.
(3) *Ergebn. d. Physiol.*, de ASHER y SPIRO, vol. VII, 1908.
(4) *Sperimentalle*. 1901 ; *Zeitschr. f. Biol.*, vol. XLV.

que puede obtenerse diluyendo el suero, que indicaría la ionizabilidad actual y la potencial al mismo tiempo de las sales del suero, el máximo de capacidad de disociación de todos sus electrólitos y, como advierte SCHADE, precisaría los resultados de esta difícil investigación físico-química. En condiciones patológicas existen variadas modificaciones de esta constante físico-química, aunque hasta el presente no se han encontrado leyes precisas y criterios prácticamente utilizables.

Si queremos ocuparnos del examen de cada uno de los iones del medio orgánico interno, encontraremos que para los aniones existe un margen bastante amplio de variabilidad en sus proporciones relativas: el organismo tiene una cierta independencia respecto a la concentración de aniones, de los cuales el más susceptible de variar es el Cl'. Normalmente se encuentran en la sangre 0,26-0,28 gr. % de cloro, pero se hallan valores de 0,12 y de 3,9 (el máximo corresponde a ciertas nefritis con retención clorurada). Parece que exista un cierto *balance* entre el Cl' y el PO_4''' en el sentido de que, cuando el primero aumenta, desciende el segundo, y viceversa. Por otra parte, STRAUB habría demostrado en las nefritis una notable y variable divergencia del contenido normal en aniones de la sangre. Pero las oscilaciones más acentuadas en sentido antagonista son entre los carbonationes y otros aniones, incluso de ácidos orgánicos, producidos en el metabolismo intermediario (como hemos visto en el párrafo anterior) con objeto de conservar la constancia de la reacción de la sangre. Pronto hablaremos de ciertas variaciones de los fosfationes, a propósito de ciertos desequilibrios iónicos muy estudiados actualmente.

Los cationes parecen tener mucha mayor fijeza. Tienen gran importancia los cationes $Na^{\bullet}$, $K^{\bullet}$, $Ca^{\bullet\bullet}$, no sólo si se consideran aisladamente, sino mucho más todavía por lo que se refiere a sus relaciones recíprocas, como se deduce de las clásicas investigaciones de J. LOEB, RINGER y muchos otros. Para conseguir la normalidad de las funciones de muchos órganos, y quizá de todos los protoplasmas, se requiere cierta relación constante $\frac{Na^{\bullet} + K}{Ca^{\bullet\bullet}}$, un equilibrio iónico bien definido, que deriva del antagonismo biológico que existe entre el $K^{\bullet}$ y el $Na^{\bullet}$ por un lado, y el $Ca^{\bullet\bullet}$ por otro. En efecto, según los célebres experimentos de J. LOEB, los huevos de *Fundulus* (un pez teleósteo) no se desarrollan y mueren en agua que contenga solamente una sal de Na o de K, y lo mismo pasa en agua que contenga solamente una sal de un metal bivalente (Ca o Mg); en cambio, se desarrollan en agua que contenga una sal de uno de los metales alcalinos Na o K y una sal de uno de los alcalino-térreos bivalentes. Podría decirse que el Na o el K son tóxicos por sí solos, y que el Ca también lo es, pero que al juntar los primeros con el segundo neutralizan su propia toxicidad, se equilibran y permiten la vida y el desarrollo del huevo. También se ha observado (v. EISLER) algo parecido para las bacterias: aparición de formas degenerativas y lisis en una solución de cloruro sódico en agua pura, y desarrollo normal si se añade al NaCl un poco de sal

de Ca o de Mg. La demostración más brillante del antagonismo entre el Na y el K por un lado, y el Ca por otro, se obtiene en el corazón aislado (de rana y hasta de mamíferos): el Na y el K producen la detención en diástole y el Ca en sístole; una solución que contenga Na, K y Ca dentro de ciertas proporciones de las sales y con un grado apropiado de alcalinidad, representa la solución fisiológica ideal (RINGER) para el corazón, el cual continúa latiendo durante bastante tiempo. El Na y el K actúan, en realidad, de una manera semejante, sólo que la actividad del K está mucho más acentuada cuantitativamente.

Las investigaciones de ZWAARDEMAKER (1) han demostrado que en lo referente al potasio, la causa de su actividad biológica consistiría, por lo menos en gran parte y para muchas funciones fisiológicas, en su débil, pero segura radioactividad (rayos β), demostrada por CAMPBELL desde 1906. ZWAARDEMAKER ha podido preparar líquidos nutritivos, aptos para mantener la función de los órganos aislados (corazón), del tipo del líquido de RINGER, en el cual el K está sustituído por la cantidad correspondiente de elementos radioactivos. Es notable que, según estos autores, tanto los elementos que emiten rayos α (uranio, emanaciones de radio) como los elementos (como el K) que emiten rayos β pueden sustituir separadamente al potasio en las soluciones salinas equilibrdas del tipo de la de RINGER, según se ha comprobado experimentando con diversos órganos; pero la presencia simultánea de elementos con rayos α y elementos con rayos β conduce, por el contrario, a la supresión de los efectos. Esto equivale a decir que los representantes de uno y otro tipo de elementos radioactivos no pueden sustituir al K cuando están *juntos*.

La doctrina de ZWAARDEMAKER no ha dejado de suscitar objeciones. Sea como fuere, es cierto que el K y el Ca, vecinos en el sistema periódico de los elementos, tienen una actividad *cuantitativamente* igual, pero distinta y hasta opuesta *cualitativamente*. Este hecho de que la intensidad es igual en acción, pero de signo contrario, es el que pone en evidencia el antagonismo entre el K y el Ca de un modo mucho más claro que el que existe entre el Na y el Ca. Por esto es que en Biología se habla principalmente de antagonismo entre el K y el Ca.

Para que una solución salina esté equilibrada biológicamente y represente, por lo tanto, una verdadera solución fisiológica para las células, debe contener una determinada proporción de estos distintos iones. El clásico líquido de RINGER está compuesto por; NaCl 0,6-0,9 % (0,6 para los heterotermos, 0,9 para los mamíferos); 0,02 % de $CaCl_2$; 0,02 % de KCl, y 0,01 % de $NaHCO_3$ (para alcalinizar ligeramente). Existen pequeñas variantes; pueden añadirse otras substancias, tales como glucosa (LOCKE) con objeto de nutrir los órganos irrigados, o goma para darle viscosidad.

(1) Véase resumen y bibliografía completa en *Klin. Woch.*, 1922, n.° 11 y 12.

Es muy usado el líquido de TYRODE (para grandes inyecciones y usos parecidos) que tiene la fórmula siguiente:

NaCl	8	gr.
KCl	0,2	»
$CaCl_2$	0,3	»
$MgCl_2$	0,2	»
NaH_2PO_4	0,1	»
$NaHCO_3$	0,05	»
Glucosa (se acostumbra a añadir)	1	»
Agua destilada	1000	cc.

No puede considerarse actualmente como *fisiológica* la simple solución de cloruro sódico al 0,7-0,9 %: ésta solamente garantiza la isotonía, pero no tiene en cuenta la ley fundamental del equilibrio iónico y perjudica a varios elementos celulares y diversos órganos. Conserva la forma de éstos, pero no la función. RÖSSLE ha puesto en evidencia las lesiones anátomo-patológicas, debidas a inyecciones intravenosas abundantes con simple solución de cloruro sódico (1). Hasta para usos clínicos (inyecciones hipodérmicas, intravenosas, lavados, lavados de mucosas delicadas) se debería emplear actualmente un líquido de equilibrio iónico perfecto, del tipo del líquido de RINGER que desde hace tiempo usan los fisiólogos. El *Normosal* del comercio es un preparado muy útil de esta clase, Para lo referente a la concentración en iones H de estas soluciones, véase el párrafo precedente.

Si en un líquido de inyección se aumenta el Ca, se observan efectos perjudiciales para el órgano, pero éstos desaparecen si *también* se aumenta el K; por lo tanto (excluyendo, como se comprende, los trastornos osmóticos), no son las cantidades absolutas de los iones antagonistas las que influyen, sino las *relativas* (véase la fórmula de más arriba).

Ejemplos del antagonismo entre el K (o Na) y el Ca: *Corazón;* el Ca produce refuerzo sistólico y paro en sístole: el K produce refuerzo diastólico y detención en diástole. *Intestino;* el Ca produce disminución del tono y detención de los movimientos automáticos; el K aumenta el tono y refuerza los movimientos. *Músculos voluntarios;* el Ca detiene las contracciones fibrilares, que son excitadas por el K; el Ca aumenta los fenómenos de cansancio, y el K los atenúa (2). *Edemas;* el Ca los inhibe; el K los favorece. *Fagocitosis;* el Ca la excita; el K la deprime. *Temperatura corpórea;* el Na produce hipertermia *(fiebre de la sal)* que es inhibida por el Ca.

En general, puede afirmarse con ZONDEK (3), KRAUS y ZONDEK (4), que la acción del Ca sobre todos los organos se asemeja a la que

(1) *Berl. klin. Woch.*, 1907, n.° 37.
(2) KRAUS y ZONDEK, *Klin. Woch.*, 1922, n.° 36.
(3) *Bioch. Zeitschr.*, vol. CXXI-CXXXII.
(4) *Deutsche med. Woch.*, 1921.

se obtiene estimulando el simpático, y la del K a la que corresponde a la excitación del parasimpático. De esto se deduciría una doctrina que pone en relación el sistema nervioso vegetativo (en sus dos secciones: simpático y parasimpático. de la última de las cuales el nervio vago es la porción principal) con las desviaciones del equilibrio iónico en las células de los órganos y alrededor de las mismas. El sistema nervioso vegetativo actuaría sobre los órganos sensibles, sirviéndose, como dice ZONDEK, de los iones K y Ca como instrumentos. Una ausencia de estos iones, o una modificación profunda de sus relaciones, aboliría o invertiría el efecto de las distintas secciones de este sistema: así, un exceso de Ca conduciría a que el estímulo del vago no inhibiría ya el corazón, sino que lo excitaría. Como el sistema nervioso vegetativo regula las principales funciones vitales, si se confirmase que esta regulación se realiza por medio de la concentración de unos u otros iones sobre la célula, el K y el Ca serían, en cierto modo, los polos entre los que oscilan las manifestaciones vitales. DRESEL y KATZ (1), estudiando el K contenido en la sangre (se trata principalmente de iones K) hallaron normalmente 22-38 mgr. por 100 cc. de sangre; los valores mínimos se encontrarían en los vagotónicos, los máximos en los basedowianos.

Parece también, según algunos autores, que puede existir una relación entre estos dos iones antagonistas, el $K^{\cdot}$ y el $Ca^{\cdot\cdot}$, y otro par también muy importante: el $H^{\cdot}$ y el OH'; según ellos, el predominio del Ca en las células o alrededor de ellas favorecería la disociación de iones H (acidificación), mientras que el K produciría una disociación de iones OH más acentuada, o sea que determinaría una alcalinización del medio celular. Existen experimentos fisiológicos que apoyan estas relaciones, complejas en sí: la adrenalina, excitante del simpático, tiene entre otras funciones la de movilizar el glucógeno del hígado, produciendo hiperglucemia y glucosuria; ahora bien: parece que en el hígado, bajo la influencia de la adrenalina, se produce una alteración del equilibrio ácido-básico en el sentido de la acidosis, y en realidad, la inyección de álcalis inhibe esta acción de la adrenalina (2).

Apoyándose en esta teoría, estaría indicada una terapéutica cálcica en los estados vagotónicos (en los cuales debería admitirse el predominio de la acción del K) y también en las manifestaciones de descompensación cardíaca (tanto más cuanto parece que el Ca refuerza los efectos de la digital). En cambio, en los estados simpático-tónicos debería emplearse una terapéutica potásica y una limitación del calcio.

Los estados de *disionia*, de alteración de las relaciones entre ciertos aniones y cationes de la sangre, tienen gran importancia clínica, y parecen presentarse en varias enfermedades además de las ya ci-

(1) *Klin. Woch.*, 1922, n.° 32.
(2) UNDERHILL, *Journ. of biol. Chem.*, vol. XXV, 1916; ELIOS y SAMMARTINO, *Bioch. Zeitschr.*, vol. CXVII, 1921; GOTTSCHALK y POHLE, *Klin. Woch.*, 1922, número 26.

tadas alteraciones funcionales en el campo del sistema nervioso vegetativo. ZONDEK, PETOW y SIEBERT (1) dicen haber encontrado en las nefritis una disminución del Ca en la sangre hasta 6 mgr. por 100 cc. de suero (en vez de 10,7-10,2 mgr. dados por ellos como normales) y elevaciones del K hasta 24 mgr. (en vez de 16-18 mgr. normales, según ellos). Creen dichos autores, que este desequilibrio iónico puede reflejarse en la función renal, perjudicándola.

Es muy interesante la orientación moderna de las investigaciones sobre la *tetania* y el *raquitismo*, en los cuales también habría estados de disionia que interesarían principalmente a los fosfationes y a los iones Ca, así como una alteración del equilibrio ácido-básico del plasma. Según FREUDENBERG y GYÖRGY (2) y FRANK, NOTHMANN y WAGNER (3), la relación entre iones H, iones Ca, bicarbonationes y fosfationes de la sangre, puede expresarse por la siguiente fórmula que GYÖRGY ha deducido de otra más sencilla, debida a RONA:

$$[Ca^{\cdot\cdot}] = \text{const} \times \frac{[H^{\cdot}]}{\sqrt{[HCO_3'] \cdot [HPO_4'']}}$$

Esta expresión significa que para que la reacción actual de la sangre, o sea $[H^{\cdot}]$ se mantenga constante, los aumentos de los fosfationes (como en la inyección experimental de fosfato bisódico) deben hacer disminuir la cantidad ionizada de Ca. En esto radica la cuestión compleja de patogenia de la tetania.

En la *tetania* se ha estudiado la riqueza en Ca de la sangre para dilucidar la génesis de la enfermedad. En efecto, esta afección reproducible experimentalmente por la extirpación de las paratiroides (tetania paratireopriva) se ha relacionado durante mucho tiempo con una reducción del Ca contenido en estado iónico en los líquidos orgánicos, pues se sabía que los iones Ca obran reduciendo la excitabilidad neuro-muscular. Las paratiroides, según esta doctrina (véase también sección III, a propósito de las correlaciones humorales), serían los órganos centrales del metabolismo del calcio, y su extirpación conduciría a una pérdida excesiva de Ca, a una desionización de éste o a una alteración de las relaciones entre los cationes Ca y los aniones PO_4, que se revelarían por el cuadro típico de la excitabilidad neuromuscular.

Por otra parte, NOEL PATON y FINDLAY y luego otros más recientemente (4) han dado importancia a los venenos del grupo de la guanidina, como agentes tetanígenos: la tetania sería debida, según esta concepción, a una intoxicación por la guanidina, que se encontraría

(1) *Klin. Woch.*, 1923, n.° 44.
(2) *Jahrbuch f. Kinderheilk.*, vol. C, III, serie 1922; *Biochemie Zeitschr.*, vol. CXXIV; *Klin. Woch.* 1922, n.° 5 y 9.
(3) *Klin. Woch.*, 1923, n.° 9.
(4) FRANK, STERN y NOTHMANN, *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXIV, año 1921.

en la sangre y en la orina de los enfermos y hasta de los animales operados de paratiroidectomía y procedería del metabolismo intermedio alterado; la substancia madre sería especialmente la creatinina que, por descarboxilación, daría origen a dimetilguanidina (el veneno más claramente tetanígeno hasta en el conejo y en el gato, en los cuales con una o varias inyecciones se reproduce el cuadro típico de la tetania o espasmofilia):

$$NH_2 — C(NH) — N(CH_3) — CH_2 — COOH = \\ = CO_2 + NH_2 — C(NH) — N(CH_3)_2.$$

Mientras que, según la primera opinión, las paratiroides serían el órgano central del metabolismo del Ca (oponiéndose a la decalcificación del organismo?), según este otro modo de ver, dichas glándulas intervendrían en el metabolismo de las proteínas, y sus lesiones conducirían al acúmulo de una verdadera *amina biógena*, la guanidina (parte I), o quizá mejor de sus derivados metilados. Pero es posible conciliar estas dos teorías: la guanidina obraría sobre los aparatos neuro-musculares produciendo una alteración de las cantidades relativas y de la distribución de ciertos iones en los líquidos orgánicos, de de la misma manera que la acción de otras aminas biógenas, como la adrenalina, la colina y la histamina, está en relación con modificaciones del equilibrio iónico y especialmente del Ca y del K. Sería necesario averiguar cómo se comporta el Ca no sólo en los líquidos orgánicos de los enfermos de tetania (y espasmofilia infantil) y de los animales privados de paratiroides, sino también en los líquidos orgánicos de los animales con tetania experimental por la dimetilguanidina.

Parece cierto que el Ca está disminuído en la sangre total o en el suero de los animales paratiroidectomizados: de las cantidades medias de 12-14 mgr. de Ca % en la sangre total se pasa, después de la operación en los perros, a 5,2-6,5 mgr. según Mc Callum y Voegtlin (1); y Hastings y Murray (2) encontraron en el suero, después de la operación, valores de 9 mgr. de Ca % y a veces mucho menos (hasta 4 mgr.) en vez de 10,4-12 mgr. normales. También en la espasmofilia infantil se encuentran siempre valores inferiores a los normales (3), que estarían comprendidos entre 5 y 9 mgr. de Ca %, según los distintos métodos, para la sangre y 9-10 mgr. para el suero. Más inseguros son los datos en la tetania de los adultos (formas gástricas, postoperatorias, gravídico-puerperales, etc), y hasta algunos han encontrado un ligero aumento; así lo aseguran Grant y Goldmann (4) en su tetania por hiperpnea o descarbonización. En la tetania experimental por guanidina Watanabe (1) ha encontrado reducción del Ca de la sangre, pero no Nelken (2) recientemente en ciudadosas investigaciones de comprobación. Parece, por lo tanto, que por ahora, teniendo siempre y solamente presente el comportamiento del Ca, no puede considerarse la acción de la guanidina como relacionada con una modificación de la riqueza en Ca de la sangre. Aclaran algo este punto las investigaciones acerca de la proporción de fosfatos (P inorgánico): Greenwald (3), Hastings y Murray (4) en la tetania por extirpación del paratiroides, Elias y Spiegel (5) en la tetania de los adultos, György (6) en la de los lactantes y Watanabe (7) en los animales con tetania por la guanidina han encontrado un aumento de los fosfatos, que confirma Nelken en los conejos tratados con dimetilguanidina (la cantidad de P_2O_5 contenida en la sangre total del conejo normal oscilaría alrededor de 12 mgr. por 100; por la intoxicación se eleva a 20-24 mgr.). Parece, por lo tanto, que la disminución del Ca no es constante en todas las formas de tetania, mientras que lo sería mucho más el aumento de los fosfatos. Puede suceder muy bien que el Ca, aunque permanezca constante o hasta esté aumentado, sufre una modificación en el sentido de que en la tetania sea menor la cantidad existente en estado iónico: efectivamente, el Ca obra sobre las estructuras neuro-musculares únicamente cuando esté en estado iónico. Según Freudenberg y György, el aumento de los fosfatos actuaría desionizando el calcio de la sangre. Parece realmente a algunos que en la tetania existe una alcalosis de la sangre (György) que sería curable con agentes acidificantes (8) de la misma manera que con el Ca por vía bucal o parenteral; que puede provocarse un estado de hiperexcitabilidad neuro-muscular inyectando fosfatos (*tetania por los fosfatos*, según Freudenberg y György) (9) o también inyectando sales potásicas diversas (también en este caso el K sería antagonista del Ca) como ha hecho Neuschloss (10).

La cuestión de la patogenia de la tetania no está, pues, del todo aclarada; pero parece que intervienen desequilibrios iónicos de los líquidos orgánicos, y no es inverosímil que el mecanismo de acción de la guanidina, el de varios estados etiológicos tetanígenos (gastropatías, paratiroidectomía, etc.) y la misma espasmofilia infantil puedan atribuirse a modificaciones de la concentración hemática de ciertos aniones (PO''') o cationes [$Ca^{\bullet\bullet}$, $H^{\bullet}$].

(1) *Journ. of exper. Med.*, vol. XI, 1909.
(2) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XLVI, n.° 1, 1921.
(3) Cattaneo, *Pediatria*, vol. XVII, 1909; György, *Jahrbuch f. Kinderheilk.*, vol. XCIX, III serie, 1922 y muchos otros; véase cuadro en Nelken, *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXXII, fasc. 5-6, 1923.
(4) *Amer. Journ. of Physiol.*, vol. LII, 1920.

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XXXVI, 1918.
(2) Loc. cit. anteriormente.
(3) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XIV, 1913.
(4) Loc. cit.
(5) Loc. cit. según Nelken.
(6-7) Loc. cit.
(8) Véase discusión y polémica sobre la concepción de Freudenberg y György y sus comunicaciones en *Klin. Woch.*, 1922-1923.
(9) *Bioch. Zeitschr.*, vol. CXXIV.
(10) *Klin. Woch.*, 1923, n.° 1 y 6.

Varios autores y los ya citados FREUDENBERG y GYÖRGY, HOWLAND y KRAMER (1), HESS y otros investigadores americanos (2), atribuyen la patogenia del raquitismo a una disionia más o menos compleja. En el raquitismo, por ser variables las cantidades de Ca en el plasma, habría una deficiencia de fosfationes (eliminación aumentada de fosfatos por la orina) y, por lo tanto, una relación anormal entre el Ca y el P, con dificultad para estos elementos de fijarse en los huesos en forma de fosfato tricálcico. Las investigaciones experimentales de MC CALLUM y sus colaboradores (3), de PAPPENHEIMER y sus colaboradores (4), que han reproducido en las ratas jóvenes lesiones raquíticas con dietas pobres en fósforo, o, como dicen, mal equilibradas para el balance P : Ca, serían una prueba del valor de este factor iónico-salino en la génesis del raquitismo, que, sin embargo, es muy compleja. Parece que las escasa concentración de fosfatos en la sangre de los raquíticos aumenta con los tratamientos fototerápicos actualmente aconsejados (acción reguladora de la luz sobre el equilibrio iónico), y con ellos se regularizaría el contenido en calcio (acción calcio-fijadora de la luz). En el raquitismo el metabolismo estaría modificado en conjunto y en sentido acidótico, y como el raquitismo y la tetania se asocían frecuentemente, debería pensarse que un tipo de disionia (acidosis con *déficit* de fosfationes en el plasma sanguíneo, iones Ca normales o reducidos, y a veces aumentados, como en el raquitismo) puede pasar fácilmente al otro (alcalosis con *déficit* de iones Ca en el plasma, fosfationes quizá aumentados, iones K predominantes). Existiría un estado de *inestabilidad iónica* del plasma sanguíneo probablemente en relación con factores alimenticios (minerales y vitamínicos) y factores tóxicos e infecciosos, y quizá también endógenos y constitucionales.

d) OTRAS CARACTERÍSTICAS QUÍMICO-FÍSICAS DE LA SANGRE.

La temperatura. — Después de haber tratado de la isotonía osmótica y de la isoionia (ésta en relación con los iones H y iones OH, con ciertos iones de las sales y especialmente con ciertos cationes antagonistas entre sí por su influencia respectiva sobre los biocoloides y, por lo tanto, sobre el protoplasma), debemos decir algunas palabras acerca de una tercera constante física muy importante, aun cuando filogénicamente sea más tardía en la serie animal; ésta es la *isotermia* o constancia de la temperatura. Las tres constantes ya citadas están unidas por influencias recíprocas; las tres están expuestas a modificaciones continuas en los fenómenos metabólicos, a los cuales corresponden, sin embargo, procesos compensadores y reguladores. El sistema nervioso tiene en las tres una influencia reguladora fundamental,

(1) *Monatschr. f. Kinderheilk.*, vol. XXV, 1923.
(2) *Journ. of Amer. med. Assoc.*, último año.
(3) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XLVI y XLVII.
(4) *Studies fr. Departm. of Pathology, College of Physicians. Columbia Univ.*, vol. XVIII, 1921-1922.

pues señala las oscilaciones que las ponen en peligro y provoca los procesos inversos de regulación. Para la termorregulación y la termogénesis, igual que para la osmorregulación, existen centros nerviosos escalonados a distintas alturas y de diversa categoría, entre los que destacan especialmente el bulbar, el hipotalámico y el pálido estriado. Conviene mencionar la importancia que tiene la constancia de la temperatura para el desarrollo de las funciones orgánicas en animales como las aves y los mamíferos *(homeotermos)* en los cuales el ritmo metabólico se ha adaptado en la actualidad a una temperatura del medio orgánico interno próxima a 38°. Ciertamente la exigencia de la isotermia no es tan absoluta ni siquiera para los organismos superiores, porque las oscilaciones de temperatura comprendidas entre unos pocos grados son tolerables y compatibles con la vida, modificándose solamente la velocidad de las reacciones orgánicas, en particular de aquellas que tienen un carácter de verdaderas reacciones químicas, más que de las que implican procesos puramente físicos (Parte I, capítulo VIII, *a*). Hemos visto que para las reacciones químicas rige la *ley de* VAN'T HOFF, según la cual la velocidad de una reacción se duplica o triplica por cada aumento de 10° de temperatura, lo cual se expresa diciendo que Q_{10}, o sea el cociente del aumento de la velocidad de reacción por cada 10° de aumento de la temperatura, o sea la relación entre la velocidad de reacción a la temperatura $t + 10$ y la velocidad de reacción a la temperatura t es igual a 2 ó a 3 aproximadamente. ¿Rige esta ley para los fenómenos biológicos, por lo menos para aquellos cuyo ritmo y duración son más fácilmente estudiables? Se ha discutido mucho esta cuestión tomando principalmente como sujetos de observación órganos y funciones de heterotermos en los cuales la posibilidad de vivir a temperaturas muy divergentes permite experimentos buenos y claros, pero también se ha utilizado material de observación representado por homotermos. HERLITZKA verificó las primeras investigaciones importantes sobre este asunto aplicándolas al corazón. Este autor (1) analizó en 1905 el comportamiento de las contracciones cardíacas en relación con el aumento de la temperatura, encontrando que la frecuencia de aquéllas no es una función constante de la temperatura, sino que varía de un corazón a otro y hasta en un mismo corazón, en las diversas fases del experimento; casi nunca la frecuencia sigue la ley a que se sujetan las reacciones químicas, HERLITZKA supuso con mucha perspicacia que la diversidad en la frecuencia de las contracciones cardíacas en función de la temperatura, fuese debida a la acción contemporánea de la temperatura por lo menos sobre dos procesos químicos distintos. GALEOTTI y PICCININI (2), trabajando con el corazón de tortuga, habrían encontrado que el aumento de frecuencia de los latidos cuando la temperatura sube de 10 en 10 grados oscila bastante: el valor Q_{10} estaría compren-

(1) *Zeitschr. f. allg. Physs.*, vol. V.
(2) *Arch. di Fisiol.*, vol. VIII, pág. 337, 1910.

dido entre 1,5 y 3,7, y, por lo tanto, según ellos, no se apartaría mucho de los valores deducidos de la fórmula de VAN'T HOFF para las reacciones químicas ordinarias; pero en los distintos experimentos los valores de Q_{10} son diversos según las temperaturas entre las culaes se experimenta. Un trabajo de SNYDER (1) incluye un cuadro con los valores de Q_{10} para varias temperaturas y para varias funciones fisiológicas, que es muy útil conocer:

Función fisiológica estudiada	Temperatura (intervalos de 10° en 10°)					
	0°-10°	5°-15°	10°-20°	15°-25°	20°-30°	25°-35°
Pulsaciones del corazón aislado de tortuga	10,2	3,5	2,2	2,1	1,9	1,4
Id. del seno venoso aislado de la rana	3,5	2,9	2,6	2,1	1,6	1,5
Velocidad de conducción nerviosa	2,7	2,7	2,3	1,8	1,8	1,5
Ritmo respiratorio de las larvas de libélula	—	2,7	2,0	1,9	1,8	1,5
Coagulación de la sangre	5,0	4,0	3,8	2,7	2,3	2,5
Plasmolisis en el tallo de las plantas	3,5	3,3	1,8	1,2	1,1	—
Ritmo muscular de las tortugas (inervación normal)	—	2,0	1,9	1,6	1,4	1,4
Latidos de las bandas ventriculares de tortuga	5,0	4,0	2,85	2,66	2,33	1,28
Fase de acortamiento de las mismas	3,5	2,5	2,5	2,18	2,0	—

Estos autores concluyen, como HERLITZKA ya había deducido anteriormente, que, aun en las funciones fisiológicas más sencillas, siempre deben considerarse por lo menos dos reacciones químicas diversas, que se desarrollan a velocidad distinta para una temperatura dada: las distintas influencias de la temperatura sobre diversos procesos elementales se suman en parte y en parte se restan, por lo cual la influencia sobre el fenómeno en conjunto resulta variable según los intervalos de temperatura estudiados.

KNOWLTON y STARLING (2), trabajando con el corazón aislado de los mamíferos, encontraron que la influencia de la temperatura sobre la frecuencia del ritmo se manifiesta constantemente y con proporcionalidad a cada temperatura estudiada: la frecuencia sería, por lo tanto, una función lineal de la temperatura. GAYDA (3), estudiando la influencia de la temperatura sobre la contracción de los músculos del erizo, encuentra variaciones notables del Q_{10} a veces muy superiores y a veces muy inferiores a las deducidas de la fórmula de VAN'T HOFF. También TERNI (4) ha hallado que la influencia de la temperatura sobre la velocidad del desarrollo (huevos de sapo) no puede sujetarse a la ley de VAN'T HOFF.

BAYLISS (5) concluye que en las funciones fisiológicas la citada ley de la Química física no tiene aplicación exacta.

(1) *Amer. Journ. of Physiol.*, vol. XXII, 1908; vol. XXVIII, 1911.
(2) *Journ. of Physiol.*, vol. XLIV, 1912.
(3) *Arch. di Fisiol.*, vol. X, 1913.
(4) *Ricerche di biologia dedicate al Prof.* LUSTIG, Florencia, 1915.
(5) *General Physiol.*, Londres, 1921.

SCAFFIDI (1) halla que la propagación del estímulo del atrio al ventrículo del corazón de tortuga obedece a la regla de VAN'T HOFF a temperaturas medias (7°-30°); mientras que por encima o por debajo de éstas, el tiempo de propagación varía de una manera no conforme a dicha regla.

En conclusión, la ley de VAN'T HOFF es cierta para cada una de las reacciones químicas, pero se comprueba que no es exacta, o sea, que Q_{10} no es constante a todas las temperaturas (cuando el material de estudio permite observaciones a condiciones extremas) para reacciones orgánicas complejas, en las cuales hay *fenómenos físicos*, dotados de una aceleración térmica mucho menor y con constancia de relaciones entre la temperatura y la velocidad del fenómeno, que van asociados *no a una*, sino casi siempre *a varias* reacciones químicas. La mayor o menor aproximación del proceso biológico a la ley de VAN'T HOFF podrá ser, a lo sumo, un indicio del mayor o menor predominio de los procesos químicos sobre los físicos (difusión, ósmosis, fenómenos de superficie, etc.).

Acerca de la influencia de las *bajas temperaturas* sobre el protoplasma, encontraremos que éstas no siempre son mortales ni siquiera para las células de los organismos superiores; son ya conocidos los experimentos de congelación y descongelación (lenta) de animales inferiores, con conservación de la vida. Pero recientemente se han empleado sobre todo en *injertos por el método de Carrel* (de tejidos de animales superiores y hasta humanos) para estudiar la acción del frío. Las investigaciones de LAKE (2), de SMITH, RITCHIE y DAWSON (3) y de MC NEAL (4), realizadas principalmente para dilucidar la génesis de las congelaciones observadas extensamente durante la guerra, nos proporcionan algunos datos interesantes: así parece que la temperatura de — 6° es como una temperatura crítica, a la cual y bajo la cual la estructura protoplasmática está irremediablemente comprometida, y la célula (de los tejidos o de la sangre) muere. A temperaturas alrededor de 0°, especialmente a + 2°, se suspende la vitalidad de las células, pero no mueren y es posible que recobren sus funciones al elevarse de nuevo la temperatura. A los + 15° hay otro punto de mayor peligro para los tejidos, quizá (LAKE) porque cesan los fenómenos anabólicos, mientras que prosiguen algunos fenómenos catabólicos, alterándose así profundamente el equilibrio del protoplasma: los tejidos trasplantados y conservados a 15° mueren más fácilmente que los mantenidos a 2°. A temperaturas más próximas a la normal de los homotermos se observan alteraciones celulares proporcionalmente menores.

Refractometría. — El suero tiene un índice de refracción $n_D = 1{,}34873$-$1{,}35168$, según REISS (5). Las substancias de molécula grande y com-

(1) *Arch. Scienze biol.*, vol. III, 1922.
(2) *Lancet*, 13 octubre 1917.
(3) *Journ. of Pathol. a. Bact.*, vol. XX, pág. 159.
(4) *Brit. med. Journ.*, 28 abril 1915.
(5) *Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmak.*, vol. LI.

pleja son las que producen la máxima refracción óptica. En el suero estas substancias son las proteínas, de donde se deduce que la determinación del índice de refracción sirve principalmente para averiguar la cantidad de albuminoides (que probablemente resulta un 10 % mayor que por el análisis químico directo), o por decirlo mejor, la relación entre la cantidad de agua y la de proteínas; es, pues, preciosa como método de estudio de la plétora serosa y de la hidremia, así como de la oligohemia seca, y puede seguirse fácilmente con el refractómetro de PULFRICH, que permite el empleo de pequeñas cantidades de suero.

Imbibición de los coloides del plasma y de los tejidos. — Es éste un punto interesante, al cual actualmente se da no poca importancia para explicar la repartición de agua entre la sangre y los tejidos; no son solamente los principios de la ósmosis los que regulan esta repartición sino que interviene mucho la avidez para el agua o hidrofilia de los coloides de la sangre por una parte y de los contenidos en los tejidos por otra. El riñón extrae agua de los coloides de la sangre y eleva por lo tanto la avidez de éstos para nuevas cantidades de agua, que es sacada de los tejidos, de lo que resulta un equilibrio complejo y poco estudiado. ELLINGER (1) supone que la acción diurética de los cuerpos de la serie púrica (cafeína, teobromina) y digitálica, por ejemplo, consiste en una desimbibición de los coloides plasmáticos, a consecuencia de la cual el agua sería eliminada por el riñón y vuelta a adquirir de los tejidos, los cuales serían desembibidos a su vez; el agua arrastraría consigo el NaCl. Según EPPINGER (2) la tiroidina actuaría también como diurético, aumentando la dispersión de los coloides del tejido subcutáneo y movilizando así agua y NaCl unidos a ellos, según los principios generales de la asociación entre el agua y el cloruro sódico, por los que se rigen en general los cambios hídrico-salinos y también la acción diurética (3). He aquí pruebas de la existencia e importancia del estado de imbibición coloidal en que se hallan las proteínas del plasma: un poco más adelante veremos el comportamiento de los coloides de los tejidos desde este mismo punto de vista.

Viscosidad. — La viscosidad o rozamiento interno, que se mide generalmente comparando el tiempo que el líquido orgánico en cuestión emplea para pasar a través de un capilar con el tiempo empleado por un volumen igual de agua (viscosidad *relativa)*, se expresa por símbolo ρ. En cambio se representa por η la viscosidad determinada en comparación con el agua y expresada en unidades dinas-cm. Si, pues, suponemos igual a 1 el valor de la viscosidad propia del agua la sangre tendrá una viscosidad relativa que oscila entre 4,05 y 6,80, según los diversos autores y los diferentes viscosímetros usados: para el suero se obtienen valores comprendidos entre 1,6 y 2,1. Pero, además,

(1) *Münchn. med. Woch.*, 1920.
(2) *Zur Pathol. u. Ther. d. menschl. Oedems*, Berlín, Springer, 1917.
(3) El nitrato de uranio produciría diuresis por el solo aumento en la eliminación del agua, completamente desligada de la eliminación de NaCl. Véase el trabajo de HEILIG, *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXXVII, fasc. 3-6, 1923.

los valores normales oscilan mucho según varios factores fisiológicos; el mismo paso de la sangre de venosa a arterial y viceversa, implicando quizá modificaciones del volumen de los hematíes (que según HAMBURGER se hinchan en la sangre venosa y se desimbiben en la arterial, a causa de las modificaciones del contenido iónico del plasma y de los mismos glóbulos) modifica la viscosidad, la cual está muy íntimamente relacionada con el número y dimensiones dd las células de la sangre.

En la anemia perniciosa la viscosidad desciende ($\rho = 1,7$) y se eleva en la policitemia (hasta a $\rho = 20$-25). Todo lo que disminuye la proporción de agua en la sangre (sudoración), lo que aumenta el volumen (como hace el CO_2) o el número de los hematíes, aumenta también la viscosidad de la sangre. Esta crece en los esfuerzos musculares intensos, en los éstasis periféricos cardiógenos y en la insuficiencia respiratoria. También la aumenta un gran incremento en el número de los leucocitos (leucemia). La dieta lacto-vegetariana la disminuye. La viscosidad de la sangre tiene un gran valor para mantener o aumentar la presión de la sangre; es éste un factor hidrodinámico fundamental. Normalmente el organismo posee mecanismos de compensación contra los aumentos excesivos de la viscosidad sanguínea, pero estos mecanismos pueden alterarse en varios estados morbosos, especialmente en la arterio-esclerosis, tanto más cuanto que quizá consistan en procesos vasomotores y en propiedades reguladoras de los cambios hídricos, los cuales corresponden a las paredes vasculares.

Es notable que en la asfixia por oclusión traqueal brusca o por el gas del alumbrado, no se modifica mucho la viscosidad de la sangre, según PELLEGRINI (1), y sólo disminuye un poco por efecto de la sangría de prueba, sabiéndose que hasta las pequeñas sangrías hacen disminuir esta constante física de la sangre.

Debemos añadir que el valor que la viscosidad y la eucoloidalidad de los líquidos circulantes poseen para el mantenimiento de las condiciones circulatorias normales, fué puesto en evidencia por PUGLIESE (2); actualmente sabemos que en la práctica de las inyecciones intravenosas de solución fisiológica con fines terapéuticos (por ejemplo, como medida de urgencia en las hemorragias graves), tienen importancia la adición de goma (3,5 %) o gelatina (2-3 %) que, al comunicar viscosidad al líquido, permiten su permanencia más prolongada en la circulación y elevan la presión sanguínea.

A veces se relaciona el factor viscosidad con la riqueza en proteínas estudiando lo que se llama *factor de viscosidad* o $R\eta$ de NAEGELI (3), que sería la relación entre la viscosidad y la concentración proteica.

(1) *Atti R. Istituto Veneto*, t. 80, II, 1920-1921.
(2) *Zeitschr. f. Physiol.*, vol. LIV, 1910.
(3) Véanse trabajos de FREY y STANKE y de SPIRO en *Klin. Woch.*, 1923, n.° 37; HELLWIG y NEUSCHLOSS, *Id.*, 1922, n.° 40.

Este factor aumentaría en los estados de hipotiroidismo, porque en estas condiciones disminuiría la concentración de las proteínas plasmáticas por el aumento de su imbibición acuosa, y aumentaría la viscosidad de la sangre, como ya se desprendía de las antiguas investigaciones de FANO y G. ROSSI (1); en cambio dicho factor disminuiría en el hipertiroidismo, en el cual el tiroides tendría una acción desimbibente sobre los coloides orgánicos (véase también más arriba: EPPINGER) y reductora de la viscosidad de la sangre quizá por activar los procesos desasimilativos a cargo de materiales molecularmente complejos (véase también sección III, «Correlaciones funcionales»).

Tensión superficial. — El suero de la sangre tiene una tensión superficial notablemente inferior a la del agua. En efecto, contiene proteínas y lipoides, que actúan enérgicamente en el sentido de disminuir la tensión superficial del disolvente (las sales aumentan la tensión superficial, pero su acción está ampliamente compensada por las proteínas y otras substancias fuertemente batótonas, esto es, que disminuyen la tensión superficial). Cono se sabe, los biólogos acostumbran a medir la tensión superficial por el método estalagmométrico (estalagmómetro de TRAUBE), o sea por el número de gotas que se pueden formar con un volumen dado de un líquido que mana por una pipeta graduada : un gran número de gotas significa una tensión superficial baja. Ahora bien, suponiendo un estalagmómetro *normal* que con un volumen dado de agua a 15° produzca precisamente 100 gotas, dará 109-112 gotas con un volumen igual de suero, porque cada gota es más pequeña a causa de ser menor la tensión de superscie. La tensión superficial se define más exactamente por el sistema dinas-cm., y se designa con la letra griega σ; así, para el suero tenemos $\sigma = 63{,}8$, siendo para el agua $\sigma = 75$. Las células están habituadas a una determinada tensión superficial de los líquidos que las bañan; si en la superficie límite entre la célula y el líquido ambiente crece la tensión superficial, la célula semoviente no tiene ya la misma libertad de movimientos amiboides, como sucede en los leucocitos en el líquido céfalo-raquídeo *normal* que tiene una tensión superficial bastante más elevada que el plasma, por el menor contenido en proteínas ($\sigma = 73{,}4$ dinas-cm., o sea, muy poco menos que el agua), mientras que recobran la motilidad en los líquidos céfalo-raquídeos patológicos, ricos en proteínas (2). Si la tensión superficial disminuye mucho, las células pierden en cierto modo los límites con el medio y presentan fenómenos de citolisis. La tensión superficial del suero está un poco disminuída en el embarazo; en el párrafo siguiente veremos algo que se relaciona con este hecho. Está más acentuadamente disminuída en la ictericia, por la presencia de sales biliares, fuertemente batótonas; lo mismo sucede en la uremia, quizá por la presencia de cuerpos metabólicos también retenidos, de acción fuertemente depresiva, y en los trastornos circulatorios.

(1) *Arch. di fisiol.*, II, 1907.
(2) FRIEDEMANN y SCHÖNFELD, *Bioch. Zeitschr.*, vol. LXXX.

SCHADE quiere ver una especie de antagonismo entre la tensión superficial y la viscosidad: en los estados en que esta última está aumentada (trastornos circulatorios), la tensión superficial está disminuída.

Se deben a ASCOLI y a su escuela una serie de investigaciones acerca de la disminución de la tensión superficial del sistema, suero inmune y antígeno, en comparación con el formado por suero normal y antígeno: la acción recíproca entre el antígeno y los anticuerpos iría acompañada, por lo tanto, de disminución de la tensión superficial. Según investigaciones posteriores, parece que el suero de los portadores de neoplasias presentaría una disminución particular de la tensión superficial cuando se pone en contacto con extractos metilalcohólicos de neoplasma, con extractos de páncreas normal (MICHELI) o con mezclas especiales de ácidos grasos (ácidos linoleico y ricinoleico). Para esta reacción, llamada *meiostágmica*, remitimos a los tratados de inmunología y serología. En el shock anafiláctico, se observaría, según KOPACZEWSKI, un aumento de la tensión superficial.

e) VELOCIDAD DE SEDIMENTACIÓN DE LOS HEMATÍES.

Una cuestión que en sus líneas fundamentales es antigua, pero que la Bioquímica moderna ha desarrollado notablemente, es la que se refiere a la velocidad de sedimentación de los hematíes en el plasma sanguíneo. Trataron de ella los antiguos fisiólogos MÜLLER, DAVY, NASSE y especialmente FUNKE en 1860 (1), el cual, con los datos de que disponía en aquel tiempo, discutió las relaciones entre la aglutinación de los hematíes, la tendencia de éstos a formar pilas y la velocidad de sedimentación. Por lo demás, era conocido hasta de los observadores empíricos más antiguos que, en ciertos casos, la sangre extraída y dejada coagular forma en la parte superficial del coágulo una capa o corteza blanquecina, la *capa láctea* o *corteza flogística*, llamada así porque se observaba en la sangre de las embarazadas o de individuos con afecciones febriles o flogísticas agudas; este fenómeno es el efecto de la rápida sedimentación de los hematíes, por lo cual los leucocitos quedan retrasados en la sedimentación y se reúnen principalmente en la parte alta del coágulo.

Corresponde ciertamente a FAHRAEUS (2) el mérito de haber reanudado el examen de este interesante fenómeno, que puede estudiarse fácilmente recogiendo la sangre en solución citratada anticoagulante (8 partes de sangre y 2 de solución de citrato sódico al 2 %), colocándola en probetas muy delgadas y midiendo después, de tiempo en tiempo (por ejemplo, cada 15 minutos) la altura de la columna plas-

(1) *Lehrbuch d. Physiol.*
(2) *Hygien*, 1918 ; *Bioch. Zeitschr.*, vol. LXXXIX, 1918.

mática libre de hematíes, que va formándose y aumentando hasta la sedimentación completa. Otros han introducido después pequeñas diferencias en la técnica (por ejemplo, 8 partes de sangre y 2 de solución de citrato al 5 %: LINZENMEYER) y en el modo de apreciar el fenómeno.

Cuando la velocidad de sedimentación está aumentada bastante notablemente, por ejemplo si se obtiene una sedimentación completa en 1 hora o en 1 hora y $^1/_2$, dicen muchos que la reacción de velocidad de sedimentación es positiva (S. G. R. de los alemanes: *Sedimentierungsgeschwindigkeitsreaktion)*. Así sucede, según FAHRAEUS y los investigadores sucesivos (1), en el embarazo y en las afecciones febriles agudas: desde el 7°. mes en adelante y hasta el 9-10 día del puerperio, la velocidad de sedimentación es máxima: alrededor de 50 minutos por término medio y hasta menos en las proximidades del parto; entre el 3.° y el 6.° mes, según LINZENMAYER, los glóbulos emplean unas dos horas, a veces menos, o bien, especialmente en el 3.er mes, a veces más, en sedimentar. En la mujer no embarazada, los glóbulos sedimentan en 3-4-6 horas; algunas veces requieren hasta 10 horas y pocas veces se depositan en 2 horas solamente; en la época menstrual se encuentran ligeras aceleraciones. En los varones la sedimentación tarda siempre algunas horas en ser completa. Durante las afecciones febriles, inflamaciones, etc., la velocidad de sedimentación aumenta mucho (en los dos sexos), alcanzando y aun superando las cifras observadas en el embarazo; esto disminuye mucho el valor diagnóstico de la reacción citada, valor que, sin embargo, LINZENMEYER reconoce que es de suma importancia en la diferenciación entre el embarazo y un mioma uterino o quiste del ovario, o entre un quiste y las afecciones flogísticas.

Recientemente se ha estudiado la velocidad de sedimentación en las formas clínicas más diversas: ésta estaría aumentada durante la evolución de los tumores malignos, en las formas activas de la tuberculosis (2), en las cuales este fenómeno tendría un gran valor pronóstico (algunos dicen que aún tendría más valor que la fiebre para orientarnos acerca de la actividad del proceso), en los casos secundarios (menos en los terciarios) de lues y en la lues congénita, y en enfermedades mentales (3). Es además un fenómeno constante la mayor rapidez de precipitación de los hematíes inmediatamente después de las prácticas proteinoterápicas o coloidoterápicas o de las inyecciones de algunos extractos de órganos y de adrenalina (4), y en la tuberculosis (si no existe ya) después de la inyección de tuberculina (5). WIECHMANN y SCHRÖDER (6) habrían observado el

(1) Véase el excelente trabajo de LINZENMEYER, *Arch. f. Gynaekol.*, vol. CXIII, fasc. 3.°, 1920.
(2) DREYFUS y HECHT, *Münchn. med. Woch.*, 1922, n.° 21.
(3) PLAUT, *Münchn. med. Woch.*, 1920, n.° 10.
(4) LÖHR, *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXVII, 1922.
(5) GRAFE, *Klin. Woch.*, 1922, n.° 19.
(6) *Klin., Woch.*, 1923, n.° 6.

aumento de la velocidad de sedimentación globular en los enfermos del hígado después de la prueba de la leche de WIDAL, como un síntoma, pues, de la pretendida crisis hemoclásica. En resumen: muchos estados morbosos van acompañados de este fenómeno, y solamente en algunos pocos (afecciones cardíacas con cianosis y estasis periférico, caquexias, ictericia) se observa el fenómeno opuesto, o sea, una mayor lentitud en la sedimentación globular operada en el propio plasma.

En general, según las investigaciones experimentales, parece demostrado que hay un aumento de la velocidad de sedimentación de los hematíes siempre que existe aumento del fibrinógeno, aumento de la labilidad plasmática, y por lo tanto, aumento de la porción menos dispersa de las proteínas del plasma. Esto nos lleva a decir algunas palabras acerca de la esencia del fenómeno. Afirman FAHRAEUS, LINZENMEYER, HÖBER (1) y v. OETTINGEN (2) que las diferencias en las velocidad de sedimentación se observan más en el plasma que en el suero: por lo tanto, la pérdida del fibrinógeno si no suprime, por lo menos atenúa la diferencia entre la sangre materna y la sangre fetal (que son los dos extremos más típicos de la escala de velocidad de sedimentación). Además, está demostrado que la diferencia no procede de los glóbulos, sino del líquido plasmático: los glóbulos de los individuos normales precipitan más aprisa en el plasma de las embarazadas que en el de las no embarazadas (experimento del cambio de plasma), igual como pasa con los glóbulos de embarazada en su propio plasma: por otra parte, los glóbulos de embarazada y los de no embarazada sedimentan con la misma velocidad cuando se suspenden en solución fisiológica o en una solución isotónica de sacarosa. A veces estos experimentos son pertubados por los fenómenos de isoaglutinación, pero PITIMADA (3) ha observado que hasta los polvos inertes (kaolín) se comportan de la misma manera que los hematíes, pues sedimentan más rápidamente en el plasma o suero de embarazada que en la de no embarazada.

La inactivación (calentamiento durante 1 hora a 55°) del plasma, atenúa la velocidad de sedimentación. Esta se halla retardada también si, durante el desarrollo de la reacción, se mantiene la probeta a una temperatura baja, por ejemplo, en hielo. La gelatina, el engrudo de almidón y la saliva isotonizada aceleran la sedimentación de los hematíes, no solamente cuando éstos están en suspensión en el plasma, sino también cuando lo están en solución fisiológica. La dilución del plasma con solución fisiológica atenúa el fenómeno (v. OETTINGEN) que alcanza su valor máximo en el plasma puro.

La explicación que ha gozado de mayor favor es la de que en el plasma de las embarazadas, de los individuos con formas infecciosas febriles, etc., deben encontrarse substancias electropositivas, capaces

(1) *Deutsch med. Woch.*, 1920, n. 16.
(2) *Bioch Zeitschr.*, vol. CXVIII, 1921.
(3) *Arch. di Osletricia e Ginecologia*, serie II, año XVII, n.° 9, 1923.

de ser adsorbidas por los glóbulos rojos, que tienen una carga electronegativa (migración anódica en los experimentos directos). De esta manera quedaría reducida la carga negativa de los glóbulos, o sea, que disminuiría la fuerza repulsiva que contribuía a mantener a los hematíes en suspensión en el plasma, por lo cual, los hematíes precipitarían más rápidamente.

LINZENMEYER ha demostrado verdaderamente que el tratamiento del plasma con adsorbentes electronegativos (talco, kaolín, carbón animal, *bolus alba)* disminuye mucho la aptitud de este plasma para hacer precipitar los hematíes que se le añaden: el adsorbente electronegativo extraería del plasma las substancias electropositivas capaces de descargar a los hematíes, por lo cual éstos no percipitarían tan rápidamente.

Los trabajos más recientes ponen en evidencia la relación entre la constitución física del plasma y su aptitud para hacer sedimentar rápidamente los glóbulos rojos. Corresponde a SACHS y OETTINGEN (1) el mérito de haber demostrado que en los estados fisiológicos y patológicos en que está aumentada la velocidad de sedimentación de los hematíes, hay también una mayor labilidad de las proteínas plasmáticas, lo que puede verse fácilmente calentando el plasma durante breve tiempo a 55° y mezclando 0,5 cc. de plasma con 0,4 cc. de solución saturada de NaCl, o bien 0,5 cc. de plasma con 0,2 cc. de solución semisaturada de sulfato amónico, y también mezclando 0,2 cc. de plasma con 1 cc. de alcohol diluído al 1 : 6 en solución fisiológica : en todas estas condiciones *(reacciones de labilidad)* los plasmas de embarazadas, febricitantes, etc., precipitan, lo que indica que son más ricos en fibrinógeno y en todas las fracciones proteicas más labiles y menos dispersas. Es natural que cuando se opera con suero, en el cual la proteína más lábil ha sido eliminada, se obtengan diferencias menos acentuadas en la precipitabilidad de los hematíes; así sucede, por ejemplo, entre el suero gravídico y el suero fetal, aun cuando según SCHADE (2), diluyendo el suero al 1 : 10 y calentándolo a 80° también se logra poner en evidencia las diferencias de precipitabilidad en varios estados orgánicos. Este paralelismo estre el aumento de la labilidad coloidal del plasma (en gran parte por *hiperinosis* o aumento del fibrinógeno, como demuestra STARLINGER) (3) y el aumento de la velocidad de sedimentación de los hematíes, aun cuando no es absoluto, tiene ciertamente un valor no despreciable para la explicación de estos fenómenos. La teoría de la disminución de la carga eléctrica, formulada primero por FAHRAEUS y desarrollada después por LINZENMEYER y por HÖBER (4) no está en contradicción con esta opinión de OETTINGEN y de STARLINGER acerca de la importancia de la labilidad coloidal del plasma. Puede pensarse, con HÖBER (1) que, cuando en el plasma aumentan las fracciones globulínicas (fibrinógeno, euglobulina, pseudoglobulina) los glóbulos rojos tienen tendencia a revestir su superficie de una capa de globulinas con preferencia a la de albúminas que normalmente los envuelve, ya que habiéndose demostrado que los distintos constituyentes coloides y quizá también cristaloides del plasma (y también los aminoácidos) se adsorben en la superficie globular, no hay ninguna dificultad en suponer que los albuminoides del plasma que son absorbidos por los glóbulos varían según las relaciones cuantitativas de las distintas fracciones proteicas del plasma. Recuérdese que las globulinas tienen un punto isoeléctrico (pág. 119) que corresponde a pH = 5,4; mientras que las albúminas lo tienen a pH = 4,7; el punto isoeléctrico de las globulinas está, pues, más próximo que el de las albúminas a la reacción normal casi neutra (pH = 7) de la sangre. Por lo tanto, cuando por el mayor contenido globulínico del plasma los glóbulos han adsorbido más globulinas, será como su tuviesen una carga menor, ya que es menor la carga de la capa proteica adsorbida, y se repelerán menos, o sea, que se sedimentarán más pronto. Las globulinas serían, pues, las substancias capaces de descargar parcialmente los hematíes según los resultados de LINZENMEYER ya citados. HÖBER da importancia a otros factores, tales como la viscosidad del plasma que, cosa aparentemente paradójica, actúa facilitando la precipitación globular. En realidad, el mayor contenido en fibrinógeno y globulinas es frecuentemente responsable de la mayor viscosidad y, si dichos albuminoides se adsorben sobre los hematíes, hacen que su superficie se vuelva más pegajosa y facilitan la precipitación (es éste un caso de verdadera aglutinación). La tensión superficial (método estalagmométrico) se encontró también reducida en los plasmas que sedimentan rápidamente los hematíes (v. OETTINGEN).

En resumen: las opiniones más recientes atribuyen estos fenómenos a modificaciones del plasma sanguíneo, teniendo, a decir verdad, más en cuenta las modificaciones físicas que las químicas de éste. Pero esto no excluye que otras substancias, además de la fracción fibrinógeno-globulínica, pueden tener importancia: tales son, por ejemplo, los productos de desintegración del tipo de los polipéptidos, capaces de adsorberse más o menos sobre los glóbulos y de modificar su carga y relaciones con el plasma, así como la estabilidad de los componentes del plasma, conforme a las ideas de HERZFELD y KLINGER (Parte I).

A este propósito conviene mencionar también las investigaciones de BECHHOLD y REINER (2) y de SCHEMENSKY (3) acerca de las modificaciones de tensión superficial de la orina durante el curso del embarazo, de los tumores malignos y de las inyecciones; en estos estados, que corresponden aproximadamente a aquellos en que hay un

(1) *Münchn. med. Woch.*, 1921, n.° 12.
(2) Véanse los trabajos de EHRENTHEIL y WEIS-OSTBORN, *Klin. Woch.*, 1923, número 13.
(3) *Bioch. Zeitschr.*, vol. CXIV, 1921.
(4) En los años 1922-1923 de la *Klin. Woch.*, se encuentran las comunicaciones de este último.

(1) *Klin. Woch.*, 1922, n.° 49.
(2) *Münch. med. Woch.*, 1920, n.° 31.
(3) *Bioch. Zeitschr.*, vol. CV.

aumento de la labilidad coloidal del plasma (medido según SACHS y OETTINGEN) o del suero (SCHADE) y una mayor precipitabilidad globular, habría una disminución de la tensión superficial de la orina (medida por estalagmometría) a causa de la aparición en la orina de productos coloidales o semicoloidales de desintegración proteica, que los autores citados llaman *estalagmomas*. Podrían coordinarse, por lo menos provisionalmente, estos datos un poco fragmentarios pero que permiten adoptar nuevos e interesantes puntos de vista, suponiendo que los productos de desintegración, que disminuyen la tensión superficial del plasma, modifican la estabilidad de sus proteínas e influyen (junto con las modificaciones coloido-estructurales de éstas y con la alteración de las relaciones cuantitativas de las distintas fracciones albuminoideas) sobre la precipitabilidad globular, pasan después a la orina en donde aparecen en forma de estalagmomas.

Es de notar que en el embarazo y en algunos estados en los cuales está aumentada la velocidad de sedimentación de los glóbulos rojos, aumenta también la riqueza en aglutininas normales del plasma y del suero para varias bacterias: las bacterias actúan, como los hematíes, de suspensiones inestables, respecto a las cuales se revela el aumento de la capacidad precipitante de los sueros en dichos estados ogánicos particulares (1).

(1) LÖWENTHAL y BERTKAU, *Centralblatt für Bakt. I. Ori.*, vol. LXXXIII, año 1919; VORSCHÜTZ, *Pflüger's Arch. f. d. ges. exper. Physiol.*, vol. CLXXXVI, año 1921.

CAPÍTULO VII

Los líquidos intersticiales de los tejidos

a) LINFA, TRASUDADOS Y EXUDADOS.

El líquido intersticial, que constituye verdaderamente el medio en el cual viven las células, está representado por material plasmático trasudado de la sangre, pero modificado más o menos profundamente por la actividad vital de las células, que encuentran en él los materiales nutritivos y en el que vierten los productos de su metabolismo. Los fisiólogos distingen una *linfa de la sangre* o *hemolinfa* y una *linfa de los tejidos* o *histolinfa* y llaman *linfa mixta* a la que se reúne en el sistema de los vasos linfáticos para ser llevada a los grandes conductos colectores que desembocan en las grandes venas. El problema de la formación de la linfa, sobre el que no podemos detenernos detalladamente, es de los más intrincados; durante algún tiempo dominó la teoría *mecánica* (LUDWIG) de la *filtración*, luego la *químico-física* de la *difusión* y *ósmosis* (COHNSTEIN) y siempre más o menos se han invocado factores vitales, en el sentido de la *teoría secretoria* de HEIDENHAIN. Por filtración se entiende el paso de un líquido a través de los poros de una membrana o diafragma en virtud de una diferencia de presión hidrostática: la sangre debe estar sometida en los capilares a una presión mayor de la que domina fuera de ellos, en el *interstitium* y, por lo tanto, gracias a la acción de la bomba impelente cardíaca que origina la presión de la sangre, debería filtrar líquido desde la sangre hacia los espacios intersticiales; por otra parte, si disminuye la presión de la sangre, puede ser mayor la que existe en el seno de los tejidos, y entonces el líquido intersticial es, por decirlo así, reabsorbido por la sangre. Así sucede después de una hemorragia o de una sangría, para devolver inmediatamente a las condiciones normales el volumen de sangre y, sobre todo, su concentración en agua y sales: *hidremia* transitoria posthemorrágica o consecutiva a las sangrías. Pero no puede explicarse todo solamente por la admisión de factores mecánicos: lo que filtra a través de la pared endotelial no es el plasma sanguíneo sin alteración. La membrana endotelial, más que un filtro, es un *ultrafiltro* que retiene parte de las substancias constituídas por moléculas

mayores y especialmente los coloides (proteínas) y deja pasar normalmente las moléculas más pequeñas, del tipo de los cristaloides y el agua. Además, entre el plasma sanguíneo y el líquido intersticial (es mejor reservar el nombre de linfa para la linfa mixta. tal como se encuentra en los vasos linfáticos completos, con válvulas) existen diferencias químicas que son mantenidas continuamente por la vida celular. A un lado de la membrana, representada por el endotelio de los capilares sanguíneos, tenemos la sangre, de composición aproximadamente igual en todas las regiones del cuerpo, mientras que de otra parte tenemos el líquido intersticial, que está profunda y directamente influenciado por los cambios con las células y que tiene una composición diversa según las regiones, el estado funcional de los órganos, etc. Hay, por lo tanto, un amplio campo para los fenómenos de *difusión* y de *ósmosis*, en relación con las diferencias de concentración molecular de cada substancia a un lado y a otro de la membrana, por lo cual, si se trata de substancias a las cuales la membrana es impermeable o poco permeable, será atraída el agua hacia el lado donde domina una concentración y por lo tanto una presión osmótica mayor, o bien, si la substancia es admitida a través de la membrana, se difundirá hasta igualar las concentraciones. En general, la concentración en moléculas osmóticamente más activas (sales y otros cristaloides) es mayor en el líquido intersticial que en la sangre: el Δ del primero es superior generalmente al de la segunda. Este desnivel de presión osmótica explica una parte de la hidrofusión, o sea de la atracción del agua de la sangre hacia los tejidos.

Pero estas leyes puramente mecánicas y químico-físicas parecen insuficientes, y de ahí la teoría secretoria de HEIDENHAIN que presupone actividades *vitales* a las células del endotelio de los capilares, las cuales extraen electivamente de la sangre los materiales necesarios para los tejidos y vierten en ella con la misma electividad las substancias de desecho: tienen por lo tanto una acción comparable a la de las células secretoras y del epitelio de las vellosidades intestinales, es decir una polaridad y un poder de selección (en ambos sentidos) que puede obrar hasta en contra de las diferencias de presión mecánica, hidrostática y osmótica, y hasta puede *crear* diferencias de concentración de uno a otro lado de la membrana. Tal sucede con los *epitelios* que revisten las cavidades serosas que son verdaderos *anexos* del sistema linfático y segregarían en cierto modo el líquido que baña a estas mismas serosas, que es también linfa. ASHER ha completado y modificado esta concepción vitalista en el sentido de transportar a las células de los tejidos las principales actividades vitales atribuídas al endotelio vascular (1); según esta teoría *celular*, son las funciones de las células vivientes las que modifican esencialmente el líquido intersticial y las que determinan los cambios entre éste y la sangre, y es precisamente mientras los órganos trabajan cuando aumenta su

(1) *Der physiol. Blutaustausch zwischen Blut u. Geweben*, Jena, 1909.

contenido en agua, su *turgencia*, que junto con la presión sanguínea, causa de los procesos de filtración, con los movimientos activos y pasivos de los órganos y con la actividad contráctil de los vasos y (en los vertebrados inferiores) de los *corazones linfáticos*, explica la progresión de la linfa por los canales linfáticos hacia los grandes troncos y el sistema venoso. Pero aquí debemos hacer intervenir las más recientes teorías coloidales: el agua está fijada en los tejidos en virtud también de procesos de imbibición coloidal, y al considerar los cambios de agua entre la sangre y los tejidos debemos tener en cuanta los fenómenos de imbibición y desimbibición de los coloides de los tejidos y de los del mismo plasma sanguínea. El estado de imbibición está (página 36) regulado por la presencia de iones salinos, por la reacción y por la temperatura, mientras que la fijación de varios cristaloides, especialmente de las sales, sigue muchas veces la suerte del agua de imbibición. En el caso de la formación del líquido intersticial tenemos que los protoplasmas de las células de los tejidos y de la respectiva substancia intercelular son coloides, y hasta en esta última se distingue una *substancia fundamental* y una *fibrilar* que tienen una estructura químico-física diversa y aptitud diferente para embeberse de agua y para fijar iones (SCHADE). Además, son también coloides los protoplasmas de los endotelios de los capilares sanguíneos, así como, cosa que debe tenerse presente, la substancia que los cementa; finalmente, también el plasma sanguíneo y, aunque con menor contenido proteico, el mismo líquido intersticial son coloides pero en estado de hidrosol mucho más flúido. Existen, pues, amplias y complejas posibilidades de imbibición y desimbibición recíproca. La membrana capilar es una membrana de naturaleza coloidal; su permeabilidad estará, pues, influenciada por los otros coloides y por los cristaloides y el agua de los materiales que la bañan (1); pero éstos varían según los distintos órganos y su estado funcional, de donde la posibilidad de variaciones de la permeabilidad del ultrafiltro representado por aquella membrana en órganos diversos y en condiciones fisiológicas y patológicas variables.

Cuando se habla del origen del sistema linfático en los intersticios de los tejidos, es necesario tener presente que actualmente no se admite ya que los capilares linfáticos se abran en estos intersticios y formen, por decirlo así, una cavidad continua con ellos. Parece dominar, actualmente, la idea que los capilares linfáticos terminan en fondo de saco en medio de las células, en las lagunas y fisuras intersticiales más o menos llenas de líquido: este factos anatómico acentuaría la diferencia entre este líquido, el verdadero medio interno en el que se bañan las células y la linfa que transcurre por los troncos linfáticos y obligaría a admitir que las propiedades físico-químicas (coloidales) y biológicas del *endotelio linfático* también deberían intervenir en la

(1) ZANGGER, KLEMENSIEWIEZ, en: KREHL-MARCHAND, *Handbuch d. allg. Pathologie.*

regulación de los cambios de líquido, especialmente en los fenómenos de reabsorción de líquido desde los tejidos hacia el sistema linfático. Así, el sistema linfático (capilares sumergidos en los órganos y formando las *raíces* del sistema, vasos con válvulas, glándulas, troncos colectores) sería también un sistema cerrado como el sanguíneo y, por otra parte, los espacios intersticiales estarían, por decirlo así, cerrados del lado de la sangre y del de la linfa por membranas coloidales, que actuarían raramente como simples membranas semipermeables, y más frecuentemente se comportarían como ultrafiltros con poros de tamaño variable según las modificaciones de los líquidos que las bañan (y especialmente, más que las de la sangre o de la linfa, influirían las modificaciones de la composición del verdadero líquido intersticial, que son también las más amplias, en relación con la actividad de los órganos). Al llegar a este punto podemos añadir que la existencia *normal* de lagunas o fisuras intersticiales ha sido puesta en duda por algunos (1); normalmente el tejido compacto retendría el agua (y las sales) como agua de imbibición, y sólo cuando el agua retenida aumenta excesivamente (edema) aparecerían las lagunas y fisuras llenas de líquido.

La importancia de la hidroafinidad de los coloides orgánicos para la explicación de los cambios de agua y cuerpos disueltos y para la concepción de la linfogenesis normal y patológica ha sido aclarada principalmente por los trabajos de SCHADE (resumidos en el libro tantas veces citado) de HAUBENRISSER y SCHÖNFELD (2) de PZRIBRAM (3) y de GAZA (4). Según SCHADE, pequeños trozos de piel normal o de tejido conjuntivo mucoso (de gelatina de Warton del cordón umbilical) sumergidas en soluciones salinas diversas, se imbiben de agua conforme a las típicas series de HOFMEISTER (pág. 121); así según HAUBENRISSER y SCHÖNFELD, lo hace el *ligamentum nucae* de buey respecto a los aniones de las sales sódicas.

La linfa, tal como puede recogerse en los grandes troncos linfáticos, tiene el aspecto de un líquido claro, límpido, salado, que coagula como la sangre fuera de los vasos y, si las paredes de éstos están lesionadas, también en ellos (trombosis linfática). Contiene pocos elementos morfológicos (linfocitos). En su composición se asemeja al plasma sanguíneo, aunque es menos rica en proteínas y, entre éstas, en globulinas.

He aquí, según TIGERSTEDT (5), un análisis de linfa humana:

93-96	%	de agua
4-7	»	de substancias sólidas
0,04-0,05	»	de fibrina
3,5-4,3	»	de proteínas
0,7-0,8	»	de substancias minerales
0,4-0,5	»	de substancias extractivas (urea, azúcar)
0,1-0,9	»	de grasas y lipoides.

(1) HÜLSE, *Virchow's Arch.*, vol. CCXXV, 1918; *Klin. Woch.*, 1923, n.° 2.
(2) *Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Ther.*, 1923.
(3) *Kolloidchem. Beihefte*, II, 1910, 1.
(4) *Kolloidzeitschr.*, vol. XXIII, fasc. 1.°, 1918.
(5) *Trattato di fisiol. dell'uomo*, trad. QUAGLIARIELLO, Nápoles, 1924.

El *quilo* es la linfa de los linfáticos intestinales o vasos *quilíferos;* después de las comidas de grasa contiene hasta un 4,5 % de grasa y tiene un aspecto lactescente. La cantidad de linfa que diariamente pasa por el conducto torácico (comprendiendo por lo tanto también la del intestino o quilo) asciende en el hombre a 4 litros por lo menos.

Se ha notado que la linfa contiene más cloro que la sangre, y se ha aceptado este hecho como una prueba de la naturaleza secretora del proceso de linfogénesis, pero ya se sabe cuán fáciles son los cambios de cloro a través de las distintas membranas animales, por factores muy diversos (recuérdense las migraciones de Cl-iones entre el plasma y los glóbulos rojos, dependientes de la tensión del CO_2). La densidad de la linfa es menor que la de la sangre (por su menor riqueza en albuminoides) y en el hombre es, por término medio, de 1,012; el Δ es un poco más bajo que 0° (mayor contenido en sales y moléculas osmóticamente activas y también de glucosa, aminoácidos, etc.). La viscosidad es de 1,5-2 veces mayor que la del agua, o sea, la mitad apenas de la de la sangre. La concentración en iones H no es muy distinta de la de ésta (QUAGLIARIELLO, CHISTONI), pero según SCHADE es un poco mayor.

En Fisiología experimental han sido muy citados y comentados los llamados linfagogos de primer orden y los de segundo orden de HEIDENHAIN. Los segundos, sin embargo, son soluciones concentradas de sales, azúcar, etc., y por lo tanto, de cristaloides en general, que inyectados en la circulación, producen el aumento del acarreo de linfa por el conducto torácico: después de la inyección, la linfa se hace más diluída; también la sangre es más diluída y su presión no crece. Actualmente se admite que estas substancias obran aumentando la presión osmótica de la sangre o, por decirlo mejor, porque amenazando la isotonía en el sentido de un aumento, reclaman agua de los tejidos a la sangre, determinando una *hidremia* o *plétora serosa* experimental. Consecuencia de ella es el aumento de presión en los capilares sanguíneos, especialmente en los viscerales, de lo cual deriva un aumento de los procesos de filtración y un aumento de la formación de la linfa de la sangre.

Los linfagogos de primer orden son, por el contrario, substancias variadas y complejas que tienen los caracteres de albumosas y polipéptidos o de otros derivados proteicos (extractos de músculos de cangrejos o de anodonta, extractos de sanguijuelas, de mucosa intestinal, nucleínas, ovoproteínas, gelatina, peptonas, extractos bacterianos, extractos de fresa, etc.). Después de ser inyectados, la linfa que afluye a la circulación es más densa, en cierto modo más semejante al plasma sanguíneo y parece que aumenta porque crece la linfogénesis en el hígado. No puede tratarse en este caso de trastornos osmóticos, ya que estas substancias son activas a pequeñas dosis que ciertamente no comprometen la isotonía de la sangre, tampoco intervienen factores mecánicos porque la presión sanguínea no es aumentada por estas substancias más que transitoriamente, y las peptonas tienen

por el contrario una acción depresora. Los linfagogos de este orden han proporcionado el principal argumento a la teoría secretora. Actualmente sabemos que todas estas substancias están caracterizadas por aumentar la permeabilidad de los capilares sanguíneos, propiedad común a muchos derivados proteicos y, de una manera típica, a ciertas bases y aminas proteinógenas, como la histamina (Parte Primera).

Por los trabajos de EBBECKE (1), de DALE y sus colaboradores (2), de HILL (3), de KROGH (4), etc., sabemos actualmente que los capilares tienen una vitalidad autónoma respecto a las arterias y que son contráctiles (por la presencia de elementos contráctiles especiales, las células de ROUGET) y que las substancias arterio-constrictoras (como la histamina) pueden ser dilatadoras de los capilares y viceversa; sabemos además que generalmente las substancias dilatadoras de los capilares *(venenos capilares*, en el sentido de HEUBNER) son susceptibles casi siempre de aumentar su permeabilidad, quizá porque producen una relajación de las conexiones entre los endotelios. Los linfagogos de HEIDENHAIN son en el fondo los venenos capilares de los biólogos más modernos, y se observa como por la inyección subcutánea de peptona, de histamina, de los distintos venenos animales (de abejas, de escorpiones) y de extractos bacterianos se producen verdaderos *habones*, esto es, linfogénesis intensas y localizadas, que EBBECKE ha estudiado cuidadosamente, y que reproducen en pequeña escala el cuadro de la dilatación capilar y el aumento de trasudación plasmática que se observan en gran escala después de la inyección intravenosa.

Observemos que son semejantes a estos linfagogos diversas substancias que consideramos frecuentemente como productoras de *idiosincrasias* alimenticias, con expresión sintomática cutánea del tipo de la urticaria (erupción de habones): si, por comportamiento anormal del tubo digestivo las substancias activas son reabsorbidas, producen la lesión capilar suave, pero difusa, de la que es manifestación el trastorno linfogenético cutáneo (5).

En todas las inyecciones abundantes de órganos con soluciones fisiológicas, aun las más perfectas, hay pérdida del *tono* de los capilares, dilatación y aumento de la permeabilidad de los mismos y paso del líquido al tejido que se pone edematoso; para conservar la pared capilar en condiciones más fisiológicas, es necesario añadir al líquido

(1) *Pflüger's Arch.*, vol. CLXIX; *Klin. Woch.*, 1923, nl° 37 y 38.
(2) *Journ. of Physiol.*, vol LII.
(3) *Brit. med. Journ.*, 1921, n.° 3152.
(4) KROGH, *Anatom. u. Physiol. d. Capillarem*, Springer, Berlín, 1924.
(5) Según investigaciones recientes (DALE, etc.), las substancias de este tipo (productos de escisión proteica y aminas proteinógenas) son responsables de varias formas de *shock*, incluyendo el quirúrgico, post-traumático, post-operatorio, el de las quemaduras graves, etc. En efecto, estos *shocks* se caracterizan por la caída de la presión sanguínea con espesamientos de la sangre (oligohemia seca) por disminución de su contenido acuoso; se admite que la misma parálisis capilar y el enorme aumento de la permeabilidad capilar conducen a una especie de verdadera hemorragia del resto del torrente circulatorio *hacia los capilares*, sobre todo en los de las regiones viscerales y, por lo tanto, a una abundante salida de plasma desde los vasos hacia los tejidos.

de inyección hematíes cargados de O_2, o bien pequeñas cantidades de adrenalina o de pituitrina.

Varias substancias del tipo de las hormonas y que se relacionan con las bases amínicas, tienen importancia respecto a la permeabilidad vascular y, por lo tanto, a la linfogénesis: la adrenalina, según antiguos datos de ERB y de HELL, produce un espesamiento de la sangre por modificaciones complejas que son analizadas en el reciente trabajo de BAUER y ASCHNER (1), y parece que produce al mismo tiempo una disminución de la permeabilidad capilar, La pituitrina no parece, según BAUER y ASCHNER, que modifique mucho los cambios entre la sangre y los tejidos. Por el contrario, son activos en este sentido los principios tiroideos, que, según EPPINGER (2), facilitarían la desimbibición de los tejidos, activando la entrada del agua y de las sales en la sangre y, por lo tanto, la diuresis acuosa y salina: observemos incidentalmente que LUCIANI y CORONEDI habían sostenido hace muchos años que existía una relación entre el tiroides y la función renal. Según EPPINGER, si se administra a un perro una cierta cantidad de agua, ésta es eliminada por el riñón en un tiempo determinado; pero si el perro es tiroidectomizado, se prolonga mucho más el tiempo necesario para la eliminación. El mixedematoso tiene la piel espesa y suculenta, como infiltrada por productos metabólicos no digeridos por sales y agua; es un predispuesto a los edemas y quizá, según esta concepción, la variable *disposición* individual *a los edemas* esté en relación con el estado funcional del tiroides.

También aquellas *hormonas exógenas* especiales que denominamos vitaminas, podrían tener importancia para la regulación de los cambios hídricos entre la sangre y los tejidos; en efecto, los edemas se incluyen en el cuadro de algunas avitaminosis y discrasias alimenticias como pronto veremos. Por lo demás, existe una relación bien clara entre los materiales alimenticios corrientes y la fijación de agua en los tejidos: la alimentación rica en hidratos de carbono aumenta el contenido en agua del organismo, mientras que las grasas, que tienen poca hidroafinidad, fijan menos agua en los tejidos; las proteínas ocupan una posición intermedia.

Después de este resumen, resultarán más claras las varias concepciones acerca de la génesis de los *trasudados* (acúmulo de una cantidad anormal de líquido en las cavidades serosas, verdaderos *anexos* de las vías linfáticas) y de los *edemas*, que ya hemos bosquejado.

Según qué factores anormales se consideren como predominantes en la linfogénesis (la diferencia de presión hidrostática entre los capilares sanguíneos y los intersticios de los tejidos, o la diferencia de presión osmótica), o que se dé más o menos valor a los fenómenos de imbibición coloidal de los tejidos, se acentúan también los efectos mecánicos, osmóticos o coloidales en la génesis de los trasudados y de

(1) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXVII, 1922.
(2) *Zur Pathol. u. Ther. d. menschl. Oedems*, Berlín, 1917.

los edemas, que consisten esencialmente en un aumento de la formación del líquido intersticial. Existen seguramente *edemas por estasis*, en los cuales el aumento de presión en los capilares es el que desempeña el papel principal, y en los que, por lo tanto, nos encontramos con un aumento de los fenómenos de filtración. Al persistir la estasis, por la acción del CO_2 y de los metabolitos no eliminados, la pared vascular se altera seguramente más o menos, y esto aumenta a su vez la trasudación patológica, siempre más rica en proteínas. COHNHEIM, basándose en las investigaciones clásicas suyas y de LICHTHEIM (1), que aun actualmente, después de tantos años y de tantos trabajos no siempre acompañados de la crítica debida, se citan como modelos insuperables de método experimental severo y correcto, ha dado especial importancia a las alteraciones de las paredes vasculares en muchas y variadas formas de edema.

COHNHEIM y LICHTHEIM observaron que la inyección en las venas de pequeñas dosis de solución fisiológica de NaCl no producen hidremia ni edemas porque el aparato vasomotor y las propiedades de las paredes vasculares, bastan, si están íntegros, para regular los cambios hídricos ; solamente la infusión de grandes cantidades origina una plétora serosa, acúmulo de líquido en ciertas serosas (serosa peritoneal: *ascitis)*, pero mucho más rara en otras (pleura y pericardio), edema de las vísceras abdominales, del conjuntivo inter y perimuscular, mientras que en los animales el tejido subcutáneo no se acostumbra a poner edematoso, quizá porque su estructura anatómica, bastante compacta, no lo permite. Sin embargo, si coexiste una lesión en un punto de la piel, obtenida, por ejemplo, con tintura de yodo, que probablemente compromete la integridad vascular, aparece incluso en los animales un edema limitado *in loco*. COHNHEIM practica además, este claro y sencillo experimento : si se practica la ligadura de la raíz de la oreja de un conejo de manera que se produzca la isquemia completa del órgano, y después de 8-10 horas se restablece la circulación sanguínea cortando la ligadura, se presenta una hiperemia intensa y un edema acentuado de la oreja : la detención de la irrigación arterial ha determinado lesiones capilares que a su vez intervienen en la extensa trasudación de plasma cuando vuelve a afluir la sangre. Por la alteración de las paredes vasculares por factores tóxicos (productos de retención), COHNHEIM explicaba también los *edemas nefríticos*, en los cuales algunos hacían resaltar preferentemente la importancia de la hidremia; pero en ciertas nefritis agudas, típicamente hidropígenas y edematógenas, no es segura la hidremia, y, por otra parte, la experimentación demuestra que es necesario un alto grado de hidremia para que se produzca edema en ciertos órganos. Los *edemas caquécticos* son debidos seguramente a las alteraciones de las paredes vasculares producidas por las modificaciones nutritivas de los endotelios.

(1) *Virchow's Arch.*, vol. LXIX.

Recientemente la teoría tan bien fundamentada de COHNHEIM ha sido algo abandonada para fijarse en el comportamiento del agua y de las sales por una parte y en las propiedades coloidales de los tejidos por otra. La escuela francesa, con WIDAL a la cabeza, ha sostenido un poco exclusivamente que los edemas nefríticos (son éstos los más estudiados y aquellos en que con mayor seguridad puede eliminarse el elemento mecánico) son debidos a una retención de NaCl a nivel del riñón. De aquí se deduce el acúmulo de esta sal, que *solamente* tendría poder edematógeno, no en la sangre (como las substancias nitrogenadas retenidas), porque una hipercloruremia no sería compatible con la necesidad de una constancia osmótica de este líquido circulante, sino en los tejidos : a su vez el NaCl acumulado retendría agua por razones osmóticas, y de aquí el edema. Esta teoría adolece del inconveniente de tener en cuenta los factores renales y osmóticos de una manera demasiado unilateral y de fijarse solamente en el NaCl ; otros autores franceses, como ACHARD, han insistido desde hace varios años en el poder edematógeno de otras sales y quizá de otros cristaloides cuando son retenidos en los tejidos. Sin embargo, es un hecho que el NaCl desempeña el papel predominante, pues, como se desprende también de las recientes investigaciones de HÜLSE (véase más arriba), el líquido del edema contiene en general más NaCl que la sangre (cerca de 0,12 % de más, por término medio) ; además, como ya hemos reconocido en la página 482, hay un cierto paralelismo entre el acúmulo de esta sal y la retención de agua, y esta sal y el agua son eliminadas al mismo tiempo, como si la una arrastrase a la otra, y viceversa. Las curas decloruradas aconsejadas por WIDAL conservan, por lo tanto, un gran valor en la terapéutica anti-hidropígena. También es cierto que el tejido celular subcutáneo y la piel son grandes depósitos de cloro, y entre los tejidos del cuerpo, son los más ricos en este elemento. Pero es probable que existan factores coloidales, más que puramente osmóticos, dotados de una importancia predominante en la fijación patológica del agua y de los cristaloides en los tejidos.

FISCHER (1) ha sostenido una teoría muy discutida: el edema es debido a una fuerte imbibición de los coloides de los tejidos, consecuencia del acúmulo en éstos de productos ácidos del metabolismo (ya hemos dicho en la página 37 que los ácidos aumentan el poder absorbente para el agua de los coloides, hasta de los no vivientes, por ejemplo de los bloques de gelatina o de fibrina *in vitro)*. En efecto, si en una rana se impide el aflujo normal de sangre a una pata practicando una ligadura en la raíz del miembro y después se inmerge éste en agua, se obtiene una enorme tumefacción; muchos otros órganos se hinchan enormemente, hasta en soluciones fisiológicas en las cuales puede excluirse toda alteración osmótica, por alteraciones nutritivas debidas a la isquemia o a otra causa, porque siempre se acumulan productos intermedios y ácidos del metabolismo. Así, FISCHER

(1) *Das Oedem*, Dresden, 1910 ; *Oedema and Nephritis*, New-York, 1921.

explica el glaucoma como un fenómeno de imbibición del globo ocular, regido por las mismas leyes: un ojo de buey sumergido en una solución diluidísima de HCl, se hincha y se pone duro como un verdadero ojo glaucomatoso; derivan de esta concepción las tentativas de cura con inyecciones subconjuntivales de citrato sódico para neutralizar los supuestos productos ácidos. Sin embargo, contradice esta teoría el hecho de que la medición directa de la concentración en iones H de los tejidos edematosos (edemas *no* inflamatorios), practicada por el método de SCHADE y sus colaboradores, citado en la página 458, no descubre la pretendida acidificación, y también el de que en muchas acidosis verdaderas, como en las diabéticas, no haya edemas. Tampoco hay aumento de agua en las masas coloidales del tejido conjuntivo en el curso de los edemas, pero sí en las lagunas o fisuras del tejido, ya que el líquido edematoso mana fácilmente por una cánula cuando se practica una punción en el tejido; pero este argumento contra la teoría de FISCHER quedaría destruído si fuese verdad lo que sostiene HÜLSE (véase más arriba) de que los espacios intersticiales no están preformados en los tejidos y sólo aparecen secundariamente cuando se acumula el líquido. De todas maneras, no se puede considerar solamente a los ácidos como agentes que elevan la hidroafinidad de los tejidos: SCHADE y MENSCHEL (1) hasta distinguen edemas por álcalis, como los de los carbonatos, de la diamina, etc.; y SCHADE (en el libro ya citado) dice que los ácidos desimbiben con preferencia la masa de la substancia fundamental del tejido conjuntivo, mientras que imbiben las fibrillas colágenas para las cuales tienen una afinidad especial.

Las experiencias ya citadas acerca del poder de imbibición del tejido conjuntivo en relación con varias sales, que concuerdan exactamente con las series de HOFMEISTER, son la prueba de que verdaderamente existen edemas en los cuales la causa de la imbibición coloidal es la más importante: así sucede con los de los *yoduros*, los *de la sal* en los lactantes, etc. Sin embargo, no es cierto que puedan incluirse aquí los edemas nefríticos. Debe existir normalmente una *competencia* para el *agua* entre los coloidales del plasma y los de los tejidos, y este equilibrio complejo debe ser regulado por factores delicadísimos, cuya alteración en un sentido conduce a los edemas y en el otro a las formas hidrémicas, a la diuresis, etc. Es cierto que las sales son poderosos modificadores de este equilibrio; lo mismo pasa con ciertos venenos capilares, determinados productos de desintegración proteica, ciertas aminas biógenas y algunas hormonas, que obran sobre las condiciones de permeabilidad de las paredes vasculares.

Recientemente se ha puesto en evidencia la importancia de los factores alimenticios, distintos de aquellos puramente salinos hasta ahora conocidos y de los hídricos, en la génesis de los edemas: en la forma hidrópica del beri-beri, en la hidropesía endémica (India) de

(1) *Zeitschr. f. klin. Med.*, vol. CXLV, 1923.

GREIG (1), en ciertas formas de distrofia por cereales observadas en los lactantes, en los *edemas del hambre* (2), tenemos varías enfermedades por carencia con edemas más o menos acentuados: se da importancia al *déficit* de grasas, al exceso de hidratos de carbono en la dieta, a la deficiencia de Ca (cuyo elemento reduce la permeabilidad vascular y, como en los edemas experimentales por yoduros, tiene una acción antiedematógena) y al *déficit* de vitaminas A y B.

En la *inflamación* tenemos el grado extremo del aumento de permeabilidad de la pared vascular, por lo cual no solamente pasan los constituyentes plasmáticos en las proporciones que más se aproximan a las existentes en el plasma (así pasan abundantes proteínas y con frecuencia hasta la proteína menos dispersa, el fibrinógeno), sino que, por una alteración de la substancia cementante de los endotelios, incluso pasan las células hemáticas *(exudación inflamatoria)*. Las diferencias químicas entre el trasudado y el exudado no son, sin embargo, más que de grado; son esencialmente cuantitativas. Se produce un edema como en el antiguo experimento de COHNHEIM (ligadura de la base de la oreja de un conejo); pero si la isquemia dura más tiempo, aparece frecuentemente una emigración moderada de células blancas y rojas, o sea un boceto de verdadera flógosis, y en muchas acciones linfógenas locales hay también una iniciación de fenómenos flogísticos verdaderos, como se deduce de las descripciones histológicas de los habones, según el citado EBBECKE.

El *edema inflamatorio* es, por lo tanto, un exudado seroso que sólo por el gran contenido proteico, por la presencia de células emigradas y por algunos pocos caracteres más, no cualitativos, se distingue del edema verdadero no inflamatorio. Es debido, según SCHADE y MENSCHEL, principalmente a la hipertonía del foco flogístico; es un edema por aumento de la concentración molecular local. SCHADE y sus colaboradores han demostrado efectivamente que en el foco flogístico existe una hiperemia acentuadísima: aumento de la concentración de iones H, como ya habíamos indicado en la página 458 a propósito de la reacción actual de los exudados, que puede ser claramente ácida en los focos más agudos; aumento de la presión osmótica, pues la mayoría de exudados tienen un punto de congelación más bajo que la sangre, siendo corrientes los valores de $\Delta = -0{,}7°$ hasta $-0°{,}9$ y llegando a $-1{,}4°$ en el pus de los abscesos calientes. La diferencia de presión osmótica que existe entre los tejidos y la sangre, se exagera, así como crece también la diferencia en la concentración de iones H que existe normalmente en el sentido: células $\longrightarrow$ líquido intersticial $\longrightarrow$ sangre. El aumento de la concentración en iones H acostumbra también a ir acompañado de otras alteraciones iónicas: así el cloro (generalmente

(1) Estudio reciente en BOWMUIK y SARKER, *Indian med. Gazette*, n.° 55, página 412, 1920.

(2) Monografía de SCHITTENHELM y SCHLECHT, *Die Oedemkrankh.*, Springer, Berlín, 1919.

en forma de NaCl) aumenta muchas veces en los focos flogísticos; recuérdese el acúmulo de NaCl en los focos de pneumonía, que explican en parte la reducción de la eliminación de esta sal en la pneumonía; según SCHADE, parece que hay cierto paralelismo entre la tendencia en el sentido de la acidificación de los tejidos y su poder retentivo para el NaCl. Además, en el foco flogístico están modificadas las propiedades de los coloides de los tejidos: GAZA (1) encuentra que en los procesos de curación de las heridas existen profundas modificaciones del tejido colágeno, con fluidificación de la substancia fibrilar e imbibición de la fundamental, y GAZA y WESSEL (2) han comprobado el hecho interesante de que en los tejidos inflamados (piel, fascias) el NaCl tiene una acción favorecedora de la imbibición poco acentuada y hasta frecuentemente nula o incluso una acción desimbibente, y que el $CaCl_2$ posee una acción imbibente más fuerte, todo lo contrario que en los tejidos normales, respecto a los cuales la acción favorecedora de la imbibición es más acentuada para la sal de Na que para la de Ca. Es de notar que en este tejido conjuntivo no existen muchas células con membrana, por lo cual tienen poco influencia los verdaderos fenómenos osmóticos y mucha los de imbibición, complicados con el hecho de que en el conjuntivo colágeno existen dos porciones, la fibrilar y la fundamental que envuelve y mantiene unidas las fibrillas, con estructura física diversa y distinto comportamiento.

Son evidentemente los fenómenos de desintegración que se desenvuelven con un ritmo acelerado bajo la influencia del estímulo inflamatorio, los que producen el acúmulo de productos ácidos intermedios y terminales, así como los que determinan la formación de substancias de molécula más pequeña, procedentes de otras de molécula mayor, de donde se deriva un aumento de la concentración molecular, que sirve luego para atraer agua por vía osmótica. Pero también debe tenerse en cuenta el hecho de que formándose en abundancia productos de desintegración, éstos frecuentemente están dotados de una hidroafinidad, mayor que la de los cuerpos coloides complejos de que se originan. En la flógosis existe una desintegración proteica aumentada y, según las ideas desarrolladas especialmente por HERZFELD y KLINGER, los productos de desintegración proteica tienen más afinidad para el agua que las proteínas originales. He aquí una razón, no osmótica precisamente, para comprender el edema flogístico. Por todas estas razones osmóticas y coloidales, aumenta la turgencia del tejido inflamado, y las vías linfáticas deben proveer más intensamente que de lo normal a la eliminación de la masa de agua y substancias disueltas, descargando el foco de las substancias modificadoras.

Son importantes para la Química-física de la inflamación, las investigaciones de OSWALD (3) y las de BECHHOLD (4): en la formación de

(1) *Kolloidzeitscr.*, vol. XXIII, fasc. 1.°, 1918.
(2) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXXII 1923.
(3) *Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Ther.*, vol. VIII, 1910.
(4) *Bioch. Zeitschr.*, vol. VI; *Zeitschr. f. Physiol. Chem.*, vol. LX, 1907.

trasudados y de exudados la pared vascular adquiere mayor permeabilidad y deja pasar las proteínas proporcionalmente a su dispersión: primero la albúmina; después, al aumentar la permeabilidad de la pared vascular, las globulinas, y por fin el fibrinógeno, la proteína menos dispersa, que solamente pasa cuando hay lesiones vasculares más considerables. Ahora bien, en la flógosis la lesión vascular y, por lo tanto, el aumento de la permeabilidad, es mayor que en los casos en que se forman los trasudados; por esto, en los exudados, además de mayor cantidad global de proteínas, encontramos especialmente aumentada la fracción globulínica (las globulinas están en relación a las albúminas como 1 : 0,5-2), mientras que en los trasudados predominan mucho más las albúminas (las globulinas están en relación con las albúminas como 1 : 2,5-4). Puede encontrarse fibrinógeno en los exudados y en los trasudados, pero más en los primeros, y si estos líquidos no coagulan espontáneamente se debe a la falta de fibrino-fermento. Si hay globulinas, existen siempre albúminas, y si hay fibrinógeno, va acompañado de globulinas y de albúminas. Por lo tanto, en la flógosis la pared vascular de los capilares representa un ultrafiltro de poros más anchos que en la formación del simple trasudado.

Estas nociones justifican los criterios clínicos de distinción entre exudados y trasudados, pero demuestran también que las diferencias entre ellos no son absolutas.

Según las antiguas investigaciones de RUNEBERG (1), se encontraría en los exudados del 4 al 6 % de albuminoides; en los trasudados por estasis de 1-3 %; todavía menos en los hidrémicos, pues sólo contienen de 0,1-0,5 % (este autor considera también como a tales a los nefríticos); pero estas cifras pueden aumentar en los trasudados en vías de reabsorción.

El peso específico, que está también en relación con el contenido proteico, nos ilustra acerca de la naturaleza de un derrame seroso, SAHLI da el siguiente cuadro sobre la proporción entre el peso específico y la proporción de proteínas:

Peso específico	Proteínas %
1018	más de 4
1015	menos de 2,5
1012	» » 2-1,5
1010	» » 1,5-1
1008	» » 1-0,5

La conocida reacción de RIVALTA y PRIMAVERA (2) para distinguir un exudado de un trasudado (verter una gota del líquido que se examina en una probeta que contiene una solución diluidísima de ácido acético, por ejemplo, dos gotas de ácido en 200 cc. de agua: si se trata de un exudado, la gota del líquido desciende formando a su alrededor una nubecilla parecida al humo) deriva de la presencia de cuerpos de

(1) *Berl. klin. Woch.*, 1897, n.° 33.
(2) *Riforma medica*, abril 1895.

tipo seromucoide, o probablemente tan sólo de la abundancia de globulinas (1) en los exudados en comparación con los trasudados.

b) Líquido céfalo-raquídeo.

El líquido *céfalo-raquídeo* representa el medio interno en que viven los órganos nerviosos centrales, respecto a los cuales cumple una función esencialmente protectora en sentido mecánico, otra reguladora de la circulación sanguínea y otra nutritiva sobre todo en el sentido de eliminación de los productos de desecho de los elementos nerviosos. Según la mayoría de autores, representa una *secreción* de los plexos coroides y no tiene la simple significación de un trasudado, ya que presenta respecto a la linfa y a los trasudados diferencias de composición bastante notables. Las meninges normalmente son poco permeables a las substancias disueltas en la sangre, las cuales, por lo tanto, *no pasan* al *líquido* céfalo-raquídeo; así sucede con ciertos colorantes vitales (los centros nerviosos no se colorean nunca vitalmente con el carmín o con el trypanblau) y con el amboceptor normal y el complemento, que faltan en el líquido fisiológico. Ambos se encuentran en las meningitis, especialmente en las agudas, y el amboceptor también en la parálisis progresiva: reacción hemolítica del líquido según Weil y Kafka (2), modificada por Salus (3). Además, la mayoría de anticuerpos pasan al líquido solamente cuando se encuentran en la sangre a gran concentración y aun no constantemente. Por lo tanto, la composición normal del líquido está asegurada por el poder selectivo de los plexos coroides y por la poca permeabilidad de las meninges. En varias condiciones morbosas, sobre todo en las lesiones flogísticas de las meninges, la permeabilidad de éstas aumenta bastante; a esto se debe que aparezcan las distintas substancias inmunitarias, que sea más fácil la penetración de substancias químicas, etc.

La cantidad total del líquido asciende en el hombre a 80-110 cc.; es mayor en los viejos con atrofia senil del cerebro. La presión normal es de 4-20 cc. de agua en posición vertical. Es un líquido límpido como el agua; si contiene sangre, pigmento hemático o sus derivados, o pigmentos biliares, adquiere los colores correspondientes.

Se designa con el nombre de *xantocromía* del líquido céfalo-raquídeo una pigmentación amarilla, que tiende a veces al verde o al pardo, debida también a pigmentos de origen hemático, probablemente relacionada con una hiperemia de estasis en las meninges; en este caso el líquido, más rico que normalmente en proteínas, algunas veces es espontáneamente coagulable, porque por efecto de la estasis de los capilares trasuda el fibrinógeno y el fibrino-fermento. Sin embargo, la *coagulabilidad espontánea* no debe ir siempre forzosamente acompañada de *xantocromía* (síndrome de compresión de Nonne). En ciertas formas

(1) Rivalta, *Policlinico*, 1904.
(2) *Wien. klin. Woch.*, 1911, n.° 10.
(3) *Id.*, 1915, n.° 44 y 1916, n.° 36.

de meningitis no hay coagulación total, sino que se forma un ligero precipitado o retículo fibrinoso *(telaraña* característica de las meningitis tuberculosas, según Mya).

El peso específico normal es de 1,006-1,007, y aumenta en los procesos inflamatorios meníngeos; $\Delta = -0°,54$ según Eskuchen (1); la viscosidad es un poco superior a la del agua: 1,01-1,06 según Eskuchen, y de 1,10 según Ziveri (2). En cuanto a la tensión superficial, véase página 484. La reacción se aproxima a la de la sangre; pero, según K. Meier (3), sería un poco más alcalina; algunos autores citan la tendencia a la acidosis en las meningitis.

Este líquido contiene 98,75-98,95 % de agua; el resto (1,25-1,05) son substancias sólidas, $^3/_4$ de las cuales están formadas por sales y $^1/_4$ por substancia orgánica. Como el humor acuoso del ojo y la perilinfa del oído interno, el líquido céfalo-raquídeo contiene una parte muy pequeña de proteínas; entre los líquidos *internos*, no de excreción o secreción, éstos son los más pobres en proteínas. Las cifras normales para el líquido que estudiamos son, según Eskuchen (4), de 0,02 a 0,025 % y, como máximo, de 0,03 %. En las distintas formas flogísticas meníngeas hay aumento, hasta 0,8 % en las meningitis agudas (5). Mientras que las pequeñas cantidades de proteínas normales están casi exclusivamente compuestas por albúmina, en los líquidos patológicos cuyo contenido proteico total está aumentado, aparecen frecuentemente en proporción discreta las globulinas. De aquí se deduce que para el médico práctico tiene un gran valor el reconocimiento de la presencia de globulinas, que normalmente existen en cantidad inferior al límite de sensibilidad de las reacciones corrientes. En las formas agudas se altera un poco la relación entre las globulinas y las albúminas; en las crónicas *(lues*, formas llamadas en otro tiempo metaluéticas) la relación se altera claramente en favor de las globulinas. Hay una serie de reacciones destinadas a descubrir el *aumento de las globulinas;* una de ellas es la llamada fase 1.ª de Nonne-Appelt: se toman partes iguales de líquido y de una solución saturada de sulfato de amonio (ésta se prepara así: hervir 85 gr. de sal en 100 cc. de agua destilada hasta que no se disuelva más, enfriar, consevarla en hielo y comprobar la reacción, que debe ser neutra), se mezclan en un

(1) *Die Lumbalpunktion*, Urban y Schwarzenberg, Berlín-Viena, 1919.
(2) *Rivista ital. de Neuropatol. e Psich.*, II, 12, 1909.
(3) *Bioch. Zeitschr.*, vol. CXXIV, 1921.
(4) Libro citado.
(5) Un método exacto de dosificación de las proteínas totales es el de Mestrezat *(Liquide cer. spin.*, París, Maloine, 1912): una cantidad conocida de líquido se hierve manteniendo el tubo no muy cerca del mechero, se añaden algunas gotas (6 gotas por 10 cc. de líquido) de una solución al 30 % de ácido tricloracético y se continúa hirviendo al baño maría; se filtra y se pesa el precipitado bien seco, o bien se centrifuga, se lava el sedimento con agua, luego con alcohol, después con éter, se seca y se pesa. Existen también métodos *diafanométricos* (véase Eskuchen, *Lumbalpunktion*, etc.). El método de Nisse *(Centralbl. f. Psch. u. Nervehheilk.*, 1904) es rápido y cómodo, y está fundado en el principio del tan conocido método de Esbach para la orina.

tubo (por ejemplo: 0,5 y 0,5 cc.; o bien 1 y 1 cc.), se dejan en reposo durante 3 minutos y se observa si hay enturbiamiento o precipitado (el líquido normal permanece límpido). Se describen distintos grados y modalidades. Se llama fase 2.ª, la precipitación consecutiva de la albúmina en el filtrado, mediante acidificación y ebullición (no tiene ningún valor clínico). Con el mismo fin se han propuesto la reacción por el sublimado de WEICHBRODT (0,3 cc. de solución al 1 °/₀₀ de $HgCl_2$ y 0,7 cc. de líquido), la del ácido fénico de PANDY (1) (que es la que necesita menos líquido de todas), la reacción con el ácido butírico de NOGUCHI y la del ácido sulfosalicílico de HUDOVERNIG (2).

KAFKA (3) ha propuesto un perfeccionamiento del método del sulfato amónico, basado en el empleo de distintas concentraciones de esta sal, con lo cual es posible diferenciar las distintas globulinas que toman parte en el aumento patológico global; así puede comprobarse que el fibrinógeno aparece especialmente en los procesos meningíticos agudos, la euglobulina en la parálisis progresiva y la pseudoglobulina en la *lues cerebri*.

No existe un paralelismo absoluto entre la pleocitosis (aumento de células en el líquido) y el aumento de las globulinas o de algunas fracciones globulínicas, aun cuando estas distintas expresiones de la flógosis meníngea vayan asociadas frecuentemente.

En las meningitis, y en las agudas más que en las crónicas, el líquido contiene frecuentemente *albumosas* y *peptonas* (demostrables globalmente precipitando primero las proteínas con ligera acidificación por medio del ácido acético, filtrando y practicando con una porción del filtrado la reacción del biuret; en *otra* porción se precipitan las albumosas saturándola con sulfato amónico, y después se buscan las peptonas en el nuevo filtrado con la reacción del biuret). Según NOBEL (4) tiene importancia la reacción de la ninhidrina (que indica la presencia de aminoácidos y otros productos de escisión proteica) en el líquido, y mejor aún en el dializado del líquido según KAFKA (5): la reacción se practica hirviendo durante medio minuto 1 cc. del líquido con 0,1 cc. de solución de ninhidrina al 1 % (color azul-violeta).

En el líquido hay un 0,5-0,75 °/₀₀ de substancias reductoras, representadas esencialmente por glucosa. BORBERG con el *micrométodo* de BANG ha encontrado exactamente esta cantidad de azúcar (6) y más recientemente WITTGENSTEIN (7) con otro micrométodo encuentra 0,45-0,60 °/₀₀. El azúcar disminuye en las meningitis agudas, quizá porque aumenta el poder glicolítico de los tejidos meníngeos infiltrados (BORBERG) o porque lo consumen las bacterias; aumenta en la diabetes, en la agonía, en varias afecciones crónicas no infecciosas del

(1) *Neurolog. Centralbl.*, 1910, pág. 915.
(2) *Neurlog. Centralbl.*, 1917, n.° 16 y 17.
(3) *Deutsche med. Woch.*, 1913, n.° 39.
(4) *Münchn. med. Woch.*, 1915, n.° 29.
(5) *Münch. med. Woch.*, 1915, n.° 40.
(6) *Zeitschr. f. d. ges. Neurol. u. Phsich.*, vol. XXXII, 1916.
(7) *Deutsche med. Woch.*, 1923, n.° 8.

sistema nervioso (siringomielia, hemorragias, tumores, etc.) y, según los datos de WITTGENSTEIN, también en los accesos epilépticos y en algunas formas infecciosas (encefalitis). En las formas agudas purulentas y en las formas tuberculosas puede desaparecer casi del todo el poder reductor del líquido; éste es quizá el hecho más seguro.

El líquido reduce el permanganato en reacción ácida (reacción de MEYERHOFER, de BOVERI, etc.).

Los cuerpos cetónicos, y en particular la acetona, pasan rápidamente al líquido en caso de acetonemia.

En el líquido normal hay 0,06-0,15 °/₀₀ de urea, y como máximo (ESKUCHEN) 0,2 °/₀₀. En las azoemias se encuentran valores elevados, hasta 4,5 °/₀₀, de gran importancia diagnóstica (investigación con el método de la ureasa). En general, la concentración de urea se aproxima mucho a la de la sangre (como término medio sería el 88 % de ésta, según MYERS y FINE) (1). Mucho menores respecto a las existentes en la sangre, son las cantidades de creatinina y de ácido úrico (MYERS y FINE).

Se encuentran normalmente indicios de lecitina y colina; estos cuerpos aumentan en el caso de afecciones con desintegración de la substancia nerviosa, y en este caso puede encontrarse también colesterina (2). La presencia de colesterina es quizá la causa de la *reacción de la inhibición de la hemolisis por la saponina*, estudiada por HAUPTMANN (3). En la eclampsia se encuentra abundancia de ácido láctico. En el curso de las ictericias los pigmentos biliares penetran muy tardíamente en el líquido; es el líquido orgánico que tarda más en adquirir el tinte ictérico.

Entre las sales citemos: 0,72-0,75 % de NaCl, un poco más que en la sangre; 0,003 % de fosfatos; los cloruros desminuyen en las lesiones meníngeas, de una manera especial quizá en la meningitis tuberculosa. Pequeñas cantidades (0,02 %) de K; indicios de Mg y de Ca. En el líquido céfalo-raquídeo normal, se encuentra una enzima amilolítica, otra lipolítica y un cierto poder antitrípsico. Estos fermentos aumentan algunas veces en los líquidos patológicos, y entonces pueden aparecer peptasas.

Varias substancias extrañas pueden llegar al líquido céfalo-raquídeo; es interesante la penetración precoz del alcohol, que se encuentra simultáneamente en la sangre y casi siempre a concentración mayor: se citan cifras hasta el 4 °/₀₀ de alcohol (en el alcoholismo agudo). También la urotropina, el yodo y el cloroformo atraviesan fácilmente las meninges sanas y pasan al líquido; más aún en las inflamadas.

En el líquido céfalo-raquídeo, además de las investigaciones serobiológicas propiamente dichas (reacción de WASSERMANN, investigación de hemolisinas o de sus constituyentes, el amboceptor y el complemento, según WEIL y KAFKA, etc.) se practican investigaciones de

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XXXVII, pág. 239.
(2) PIGHINI, *Zeitschr. f. Physiol. Chem.*, vol. LXI, 1909.
(3) *Mediz. Klin.*, 1910, n.° 5.

carácter químico-coloidal que consisten en poner en evidencia la aptitud más o menos acentuada del líquido céfalo-raquídeo respecto a la precipitación de un coloide liófobo por la acción de un electrólito. Se trata, pues, de ensayar el sistema del coloide liófobo (suspensoides diversos) con electrólitos (solución salina de cloruro sódico, a distintas concentraciones, la misma con la que se diluyen los otros reactivos, por ejemplo, el líquido céfalo-raquídeo que se examina) respecto al líquido céfalo-raquídeo: en condiciones patológicas éste puede tener una acción protectora más o menos acentuada respecto a la precipitación del suspensoide, o bien puede tener una acción favorecedora; en la mayoría de dispositivos experimentales se aprovecha especialmente esta última propiedad, debida a su contenido en globulinas, núcleoproteidos, albumosas (1) o a modificaciones en la concentración salina del mismo líquido (2). Un resumen completo de esta cuestión se encuentra en el libro de ESKUCHEN.

El punto de partida de estas reacciones coloidales son las investigaciones de ZSIGMONDY acerca del índice de oro *(Goldzahl)* de los proteicos y otros emulsoides. Los emulsoides tienen una acción protectiva mayor o menor sobre la precipitación de un sol de oro por efecto de una solución de NaCl; el índice de oro es precisamente el número de miligramos de un cuerpo (por ejemplo, proteína) que basta para proteger 10 cc. de sol coloidal de oro de la floculación (con cambio de color del rojo púrpura al violeta, después al azul y, finalmente, al blanco) originada por 1 cc. de solución de NaCl al 10 %.

AXENFELD (3) y BRECCIA (4) han sido los primeros en estudiar la influencia de los líquidos orgánicos y tejidos sobre la precipitación de soles coloidales metálicos (argénticos). Después LANGE hizo en 1912 (5) las primeras tentativas en el líquido céfalo-raquídeo con fines clínico-diagnósticos, y así nació la *reacción del oro coloidal* de LANGE, que consiste en el hecho de que los líquidos céfalo-raquídeos patológicos precipitan (decoloran) el sol de oro (rojo), mientras que los líquidos normales, a las mismas dosis y en presencia de iguales proporciones de electrólito, no modifican la suspensión. LANGE diluye el líquido céfalo-raquídeo con solución de NaCl al 0,4 %, esto es, con una cantidad tal de solución salina que por sí sola no produzca nunca la precipitación del suspensoide, y hace diluciones sucesivas: 1 : 10, 1 :20, 1 : 40, 1 : 80..., etc. hasta 1 : 20000; de cada dilución toma 1 cc. y le añade 5 cc. de sol de oro preparado por reducción del cloruro áurico (6). Se observa que los líquidos céfalo-raquídeos de las formas luéticas del sistema nervioso central dan la modificación característica del color, preferentemente en las diluciones 1 : 40, 1 : 80 (en

(1) EICKE, *Münchn. med. Woch.*, 1913, n.° 49.
(2) ZALOZIECKI, *Zeitschr. f. Nervenheilk.*, vol. XLVII, XLVIII, 1913.
(3) *Centralbl. f. Physiol.*, vol. XXII, 1908.
(4) *Gazzetta degli Ospedali*, vol. XXX, pág. 1594, 1910.
(5) *Berlin. klin. Woch.*, 1912, n.° 49.
(6) Véase EICKE, loc. cit.; ESKUCHEN, loc. cit.

la parálisis progresiva hay una zona más amplia de positividad, hasta el 1 : 640), mientras que en las meningitis agudas y en todos los casos de hemorragia en el espacio subaracnoideo la decoloración se observa en la zona de las grandes diluciones (del 1 : 640 al 1 : 1280). El método tiene un valor clínico indudable. Se suele representar gráficamente los resultados por una curva construída señalando sobre las abscisas las diluciones del líquido céfalo-raquídeo y sobre las ordenadas el grado de decoloración del sol (rojo-azul-blanco): se obtienen curvas con un acmé característico hacia las diluciones menores *(lues)* o mayores (meningitis agudas).

Para la preparación del sol de oro se encuentran no pocas dificultades, de donde las numerosas tentativas para sustituirlo por otro suspensoide. Según el diverso sistema coloidal empleado, se distinguen las siguientes reacciones:

Reacción del mástic de EMANUEL (1), modificada por JACOBSTHAL y KAFKA (2), bien estudiada por SACHS (3) y recientemente por ESKUCHEN (4). Se basa en la presencia en los líquidos normales de coloides protectores que impiden la precipitación de una suspensión de mástic por efecto de una solución salina: mientras que los patológicos, por su gran riqueza en proteínas, destruyen esta protección y, por lo tanto, precipitan al mástic.

Reacción del azul de Prusia de KIRCHBERG (5); el líquido céfalo-raquídeo normal no modifica una solución coloidal de azul de Prusia, que es precipitada por los líquidos patológicos. Es muy sencilla de ejecutar, pero no tiene la finura de las precedentes, que hasta un cierto punto orientan acerca de la naturaleza del proceso morboso.

Reacción de la resina de benjuí, según GUILLAIN, LAROCHE y GRIGAUT (6).

Reacción de la congorrubina de LUERS (7).

Reacción del colargol (8) en la cual el sol indicador es el colargol usual en Farmacia, que debe precipitar más por la acción de los líquidos patológicos que por la de los normales, ya que, según ELLINGER, los primeros presentan una labilidad de algunas de sus fracciones proteicas. La citada reacción, practicada siguiendo exactamente las indicaciones de ELLINGER respecto a las proporciones de líquido céfalo-raquídeo, colargol y NaCl, es aproximadamente paralela a la WASSERMANN.

Recientemente BLOCH y BIBERFELD (9) han propuesto un método sencillo y cómodo para diferenciar las proteínas del líquido céfalo-

(1) *Berl. Klin. Woch.*, 1915, pág. 792.
(2) *Id.*, 1916, pág. 98; 1918, n.° 11.
(4) *Id.* 1916, n.° 25.
(4) *Klin. Woch.*, 1913, n.° 45.
(5) *Arch. f. Psych.*, vol. LVII, 1917.
(6) *Compt. rend. Soc. de Biol.*, vol. LXXXIII, pág. 1077, 1920.
(7) *Kolloidzeitschr.*, vol. XXVII, 1920.
(8) STERN y POENSGEN, *Berl. klin. Woch.*, 1920; ELLINGER, *Id.*, 1921, n.° 34, *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. CXVI, 1921.
(9) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XL, pág. 250, 1924.

raquídeo, fundado en su diverso punto isoeléctrico, y que consiste en determinar el máximo de floculación en una mezcla de sales amortiguadoras (acetatos) con pH variable, en presencia de alcohol. Según dichos autores, se llegaría a diferenciaciones aun más precisas que las que se obtienen con la reacción del oro, y se distinguirían las lesiones flogísticas de las degenerativas del neuroeje.

c) Líquido amniótico.

El líquido amniótico, que algunos consideran que no es un simple trasudado, sino una mezcla de un trasudado materno con orina fetal, tiene un peso específico de 1,002-1,028 según muchos autores, y según las extensas investigaciones de Uyeno (1), de 1,004-1,010 por término medio. Su Δ oscila por término medio alrededor de $-0{,}5°$, o sea que tiene una ligera hipotonía con relación a la sangre.

La concentración en iones H, ha sido investigada por el mismo Uyeno, del cual hemos sacado estos datos, encontrando que es de $0{,}1282 \cdot 10^{-7}$ por término medio en el líquido puro y de $0{,}8903 \cdot 10^{-8}$ en el líquido coloreado por la presencia de meconio: posee, pues, una reacción ligeramente alcalina. El papel de tornasol también acusa reacción alcalina.

En el término del embarazo el líquido amniótico contiene siempre elementos inorgánicos, Cl, H_2SO_4, P_2O_5, Na, K, Ca, Mg, Fe. La parte principal de las sales está compuesta por el NaCl (por término medio 75,2% de las cenizas totales). Parte del azufre se encuentra constituyendo las proteínas.

Promedio del contenido en 100 cc. de líquido (en gramos):

Agua	99,4880
Substancias sólidas	1,2425
Substancias orgánicas	0,4504
Cenizas	0,8098
NaCl	0,6093
Na	0,2834
K	0,0194
Ca	0,0111

Entre las substancias orgánicas tenemos como constituyente constante el ácido láctico dextrógiro (0,0726 %); no contiene azúcar; cantidades mínimas de alantoína, lisina e histidina; proteínas en la cantidad de 0,226 %, representadas principalmente por albúmina, mucina e indicios de globulina; 0,0029 % de amoníaco, por término medio; 0,0323 % de urea; pequeñísimas cantidades de ácido úrico y de creatina y colesterina.

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XXXVII, pág. 77, 1919.

CAPÍTULO VIII

Las oxidaciones intraorgánicas

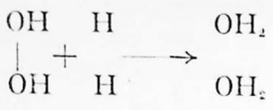
a) Conceptos generales. Teoría clásica de las autooxidaciones. Las oxidasas.

Las oxidaciones intraorgánicas son la fuente de la energía que vemos liberada por los organismos, principalmente en forma de calor y de trabajo mecánico y a veces de luz. La comparación que se hace corrientemente entre las combustiones tal como se verifican en el mundo inorgánico y los procesos de oxidación en los tejidos animales, no tiene, sin embargo. nada de preciso.

La *oxidación* es generalmente un proceso exotérmico (excepción hecha de la oxidación del agua hasta peróxido de hidrógeno y la del N a NO) y en el caso más sencillo consiste en la unión directa del oxígeno con el substrato oxidable, como cuando el Fe se oxida en contacto con oxígeno. Tanto si esta oxidación se realiza rápidamente (por ejemplo, el hierro arde en una atmósfera de oxígeno puro) como lentamente (formación del orín en el hierro), el efecto térmico positivo, la liberación de energía al final de la reacción, es exactamente igual No se crea, sin embargo, que esta oxidación simple o autooxidación sea un proceso tan elemental: es necesario ante todo que la molécula $O = O$ de oxígeno sea separada en sus dos átomos, para que éstos puedan combinarse con el substrato, formando el óxido. El ejemplo más sencillo es el de la combinación del oxígeno y del hidrógeno para formar agua: este proceso se desarrolla espontáneamente con enorme lentitud, pues las moléculas de los dos gases ofrecen *resistencia* a combinarse. Es necesario que la reacción sea acelerada por medio de un catalizador, como la esponja de platino o el paladio, para que podamos observar y medir el producto. En todo estos casos la reacción se realiza de modo que el doble enlace entre los dos átomos de la molécula de oxígeno se resuelve para admitir los dos átomos de hidrógeno de esta manera:

$$O = O + H_2 \longrightarrow HO - OH$$

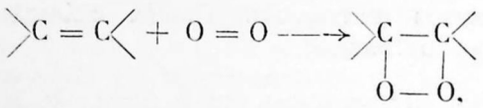
y se forma (pues está demostrado experimentalmente) agua oxigenada o peróxido de hidrógeno. Este reacciona con otra molécula de H_2 y se obtiene:



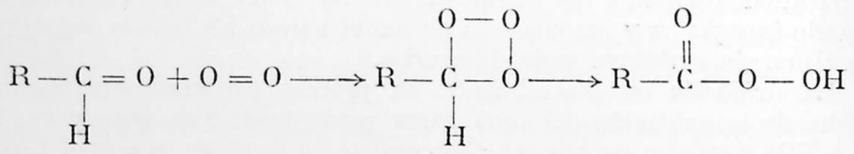
es decir, que se llega al producto terminal, el agua.

Tengamos presente la formación del H_2O como producto intermedio de esta oxidación sencillísima, porque la encontraremos en las oxidaciones intraorgánicas.

Varias substancias orgánicas son susceptibles de esta oxidación directa: las olefinas, que también dan origen a peróxidos como productos intermediarios:



los aldehidos que dan perácidos:



los cianuros, que dan cianatos, etc.

Adviértase, sin embargo, que son muchos los cuerpos que se encuentran en los tejidos y que son capaces de estas oxidaciones simples.

En el organismo se trata esencialmente de oxidar ácidos grasos, glicerina, azúcar, aminoácidos, es decir, el grupo de substancias relativamente sencillas, al cual han sido reducidas las grasas, los hidratos de carbono y las proteínas por los procesos de escisión hidrolítica que se desarrollan en el tubo digestivo y en los mismos tejidos por la acción de varias hidrolasas. La oxidación no ataca, por lo tanto, a las grasas, a las proteínas y a los hidratos de carbono como tales, sino a sus productos de escisión, los cuales, sin embargo, no son tampoco fácilmente oxidables a temperaturas próximas a 37°. Este es uno de los problemas más graves de la Biología: explicar como, sin alcanzar las altas temperaturas a que se practican las combustiones en el crisol del químico, aquellas substancias son quemadas con extremada facilidad hasta convertirlas en los productos terminales CO_2, H_2O y NH_3.

Sobre esta cuestión hay dos teorías opuestas: una, más antigua, pero aun no abandonada, y otra, más reciente: la primera fué desarrollada principalmente por Bach y Chodat (1), la segunda, que estudiaremos en el párrafo siguiente, es debida a Wieland (2). Según la primera, que resumiremos aquí, en el organismo hay substancias fácilmente oxidables a peróxidos, las cuales tendrían la estructura general $R\langle^{O}_{O}$—, como por ejemplo en Química inorgánica $Ba\langle^{O}_{O}$—; y estos peróxidos cederían fácilmente, reduciéndose a óxidos simples $R = O$, o reduciéndose del todo, uno o dos átomos de oxígeno, que sería por lo tanto *activado* y podría oxidar a otras substancias no tan fácilmente oxidables por sí mismas. La presencia de substancias fácilmente autooxidables y la consiguiente formación de peróxidos nos daría, con la sucesiva *activación* del oxígeno, la explicación de las oxidaciones de los cuerpos más difícilmente oxidables. Como la substancia autooxidable, una vez oxidada a peróxido y luego nuevamente reducida por la cesión del oxígeno *activo* (atómico) al material que hay que oxidar, puede volver a oxidarse otra vez, volver a ceder oxígeno y así sucesivamente, se trata en realidad de una *oxidación inducida* o *transporte de oxígeno*. La substancia fácilmente oxidable obra en cierto modo de catalizador *(catálisis de transporte)*, pues, con su oxidación y reducción alternativas, traslada el oxígeno atmosférico al cuerpo menos fácilmente oxidable *(receptor* de oxígeno).

Los cuerpos fácilmente oxidables se llaman *oxigenasas*, y se cree y hasta para muchos está casi demostrado, que en los tejidos existen enzimas catalizadoras de la escisión del peróxido con liberación de oxígeno *atómico*, y estas enzimas, puesto que obran sobre los peróxidos, se llaman *peroxidasas*. En los tejidos debería, pues, encontrarse el sistema: peróxido + peroxidasa, constituyendo lo que se llama la *oxidasa completa* o *directa*. El reconocimiento de estas oxidasas se basa en el principio siguiente: varias substancias capaces de ser oxidadas y de presentar por la oxidación características especiales, por ejemplo adquisición o modificación de un color, son añadidas al tejido o al extracto del tejido en el que se supone la existencia de oxidasas directas; la aparición del color demuestra que la substancia reveladora ha sido oxidada por la acción del complejo: peróxido + peroxidasa. En Biología se emplean varias de estas reacciones para reconocer las oxidasas de este tipo: en efecto, éstas son capaces de actuar generalmente sobre cuerpos fenólicos *(fenoloxidasas* o *fenolasas)* oxidándolos y condensándolos, dando por lo tanto una reacción cromática y produciendo *colores* a partir de los *cromógenos* incoloros. Así Kreibich (3) demuestra en los leucocitos granulosos la presencia de las llamadas oxidasas, que obran sobre la adrenalina: si los cortes de órganos que

(1) *Ber. d. deutsch. chem. Gesellch.*, vol. XXXVI-XLI; *Biochem. Zeitschr.*, vol. XXXI, XXXIII, XXXVIII, LX.

(2) *Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch.*, vol. XLV, XLVI, XLVII, LIV; resumida en *Ergebn. d. Physiol.*, de Asher y Spiro, vol. XX, 1922.

(3) *Wiener klin. Woch.*, 1910, pág. 710.

contienen leucocitos (focos flogísticos), después de fijados por el formol, se tratan por una solución al 1 °/oo de epirrenina o suprarrenina del comercio (= adrenalina), se obtiene al cabo de dos horas una coloración negra de las granulaciones de las células eosinófilas y amarillo-parda de los leucocitos neutrófilos. UNNA y LOELE (1) indican varios métodos para la demostración histológica de las oxidasas citadas, por medio de varias substancias previamente reducidas a leucobases, que después, al ser oxidadas, vuelven a recobrar el color: con estos métodos se han distinguido en las células puntos o centros de oxidación (núcleo) y de reducción, y se ha podido confirmar el resultado de antiguas y clásicas investigaciones de EHRLICH, según las cuales entre los distintos tejidos existen unos con aptitud oxidante mayor y otros con aptitud preferentemente reductora respecto a varias substancias aromáticas. Los glomérulos renales, la capa inferior de la piel, la grasa y las células ganglionares son puntos de oxidación; los hematíes y los músculos, puntos de reducción. Sin embargo, es necesario advertir que refiriéndose los resultados a substancias extrañas más o menos fácilmente oxidables, como estos reactivos (por ejemplo, azul de metileno reducido con rugalita, en las investigaciones de UNNA) no pueden compararse directamente, como se creyó en otro tiempo, con los verdaderos procesos íntimos de oxidación orgánica. Debemos hacer especial mención de la conocida reacción de SCHULTZE (2), llamada sencillamente reacción de las oxidasas, por los histólogos, muy empleada para reconocer y diferenciar los leucocitos granulosos o los mielocitos de las otras células hematógenas o histógenas: se funda en el hecho de que un cierto sistema oxidásico, evidentemente presente en las granulaciones de los leucocitos, en las glándulas salivales y lagrimales (3), en los músculos y en las células de las terminaciones nerviosas (4) realiza con dos reactivos, la parafenilendiamina y el α-naftol, en presencia de oxígeno, la síntesis de un indofenol *blanco* que posteriormente es oxidado produciendo un indofenol *azul;* es, por lo tanto, una *síntesis oxidante* del indofenol azul, que es activada por una oxidasa directa de ciertas células y órganos celulares. La reacción se ejecuta con porciones de tejido u órgano fresco y hasta con porciones fijadas con formol y en cortes por congelación. Esta última posibilidad de demostrar las oxidasas en piezas fijadas, prueba que el fenómeno no tiene un carácter *vital*, y sirve además de método útil para la diferenciación histoquímica.

Por otra parte existen otras reacciones de uso frecuente, en las cuales, para obtener la oxidación reveladora a expensas de un substrato usado como reactivo, es necesaria la adición de un peróxido apropiado, que es generalmente el agua oxigenada. En este caso, según

(1) Véase resumen por este último en *Ergebn. d. allg. Pathol.*, de LUBARSCH-OSTERTAG, vol. XVI, 1913.

(2) *Ziegler's Beitr.*, vol. XLV; *Münschn. med. Woch.*, 1910, pág. 2171; *Verhandl. d. deutsche pathol. Gesellsch.*, 1913.

(3) SCHULTZE, *Centralbl. f. allg. Pathol.*, vol. XX, 1913, pág. 501.

(4) GRAEFT, *Frankfurt. Zeitschr. f. f. Pathol.*, vol. XI; KATSUNUMA, *Ziegler's Beitr.*, vol. LX, pág. 150, 1915.

la teoría clásica de BACH, se supone que los peróxidos del sistema citado contenidos en los tejidos son muy lábiles y de fácil destrucción, por lo cual no existirían más que las peroxidasas, que sin embargo no podrían ser reconocidas, sin la adición artificial de un peróxido, que es generalmente el H_2O_2. Estas son las que se han llamado simplemente *peroxidasas* u *oxidasas indirectas*, que pueden demostrarse añadiendo al material orgánico: 1.°, un peróxido, que es frecuentemente el H_2O_2; 2.°, la substancia aromática, reveladora por medio de la reacción cromática, del efecto oxidante que se realiza a sus expensas, por ejemplo: tintura de guayaco (que al oxidarse se vuelve azul), aloína, bencidina, etc. Todo esto nos permite explicar muchas de las reacciones empleadas para investigar el pigmento sanguíneo (por ejemplo: en las heces, en el contenido gástrico y en la orina) fundadas precisamente en la ligera acción de peroxidasa propia del citado pigmento: en estas reacciones la adición de peróxido (H_2O_2; esencia de trementina vieja y rica en substancias autooxidables, en peroxidasas y hasta en H_2O_2, etc.) y de un cuerpo oxidable que por la oxidación adquiere un color determinado, revela la presencia de las peroxidasas (*oxidasas indirectas*, porque la acción oxidante no es inmediata sobre el substrato, sino que exige un peróxido como agente de transporte de oxígeno).

En el reino vegetal tenemos muchas de estas *fenolasas*, que con ciertos cromógenos aromáticos (polifenoles) forman substancias colorantes; una de ellas es la *lacasa*, que ennegrece el jugo amarillento de la laca japonesa. Son muy conocidas y distintas de esas las *tirosinasas*, que, como se ha dicho a propósito de la génesis de las melaninas, forman cuerpos coloreados y más o menos parecidos a éstas por oxidación y condensación de la tirosina. Se encuentran tirosinasas en varios jugos vegetales y tejidos animales (glándula de la tinta de la sepia, capullos de las ninfas de mariposa, etc.). Parece que su acción es mucho más compleja de lo que se creía y de lo que aquí se ha dicho.

Son vecinas pero distintas de las fenolasas y de las tirosinasas, las llamadas *purinoxidasas*, fermentos también oxidantes per medio de una probable activación del oxígeno, pero adaptados a los substratos formados por cuerpos púricos. Son fermentos importantísimos para el metabolismo de estos cuerpos: entre ellos se encuentran las *xantinoxidasas* o *xantoxidasas*, que oxidan la xantina y la hipoxantina a ácido úrico, y la *uricasa*, que en varias especies animales oxida el ácido úrico a alantoína (esta *uricasa* debe faltar en los tejidos humanos). Un fermento oxidante de mucha importancia y muy estudiado es la *alcoholoxidasa* de las bacterias acetificantes del vino, fermento que oxida el alcohol etílico hasta ácido acético (a través de la formación de aldehido acético) y que ha sido encontrado hasta en los cuerpos bacterianos muertos, así como en tejidos animales.

Citamos este grupo de fermentos oxidantes, *oxidasas* en el sentido más amplio, porque han sido más o menos empleados como ejemplos de acciones catalíticas que se realizan en procesos considerados du-

rante mucho tiempo como autoxidaciones típicas por medio de la activación del oxígeno. Cuando vemos que las bacterias acetificantes o sus cuerpos muertos que contienen alcoholoxidasas, transforman el alcohol en ácido acético, consumiendo oxígeno atmosférico, parece que no hay nada más claro y sencillo que admitir una oxidación directa del alcohol a aldehido y de éste a ácido, en ocasiones por el intermedio de la formación de peróxidos lábiles, y catalizado el conjunto por enzimas celulares.

Sin embargo, surgen algunas dificultades para la generalización de estas sencillas conclusiones. En las substancias celulares faltan generalmente aquellos grupos no saturados, por lo tanto con doble enlace, que sabemos tan apropiados para unir el oxígeno molecular de una manera directa, como hemos visto y recordado hace poco en las olefinas. Sólo los poseen ciertos ácidos grasos, y ya hemos visto la importancia que se da a los ácidos grasos no saturados, particularmente abundantes en las grasas de los órganos de gran actividad metabólica para comprender por lo menos parcialmente los intensos procesos de oxidación que en ellos se desarrollan (Parte Primera).

El oxígeno molecular debería, según las ideas clásicas brevemente expuestas, ser activado por vía catalítica en presencia de las substancias fácilmente oxidables a peróxidos, y por efecto de las peroxidasas que obran sobre dichos peróxidos. Pero ya SCHMIEDEBERG había notado hace mucho tiempo que cuerpos muy oxidables *in vitro* por el oxígeno molecular o aun mejor por el oxígeno atómico, no son oxidados, en cambio, por los tejidos: así sucede con el fósforo, el arsénico, el ácido oxálico, el formaldehído, etc. Según WIELAND resulta difícil concebir cómo podrían coexistir en los tejidos las distintas enzimas y el oxígeno activo, pues se sabe que las enzimas son muy fácilmente destruídas *in vitro* por los agentes oxidantes. Sería necesario admitir que se tratase de una activación del oxígeno con carácter completamente específico, de manera que atacase exclusivamente las substancias que hay que quemar, pero no tenemos ningún ejemplo de una activación tan singular del oxígeno.

Finalmente, se ha recurrido a hipótesis diversas, como la de BERTRAND y de WARBURG (1), que admiten la intervención de metales, Mn o Fe, en la constitución de los fermentos activadores del transporte de oxígeno; de este modo las oxidaciones intraorgánicas se ajustarían al esquema de los fenómenos de activación del oxígeno, tales como los que se observan en Química inorgánica, donde, por ejemplo, los sulfatos manganoso o ferroso obran por un mecanismo de oxidación y reducción alternativas, de transportadores enérgicos de oxígeno respecto a cuerpos que de otro modo no serían fácilmente oxidables de una manera directa. La oxidación intraorgánica sería un fenómeno de catálisis por metales pesados, concentrados junto con el material que hay que oxidar, sobre la superficie de un medio coloidal; sería,

(1) *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol XCII, 1914.

por lo tanto, una catálisis de adsorción (WARBURG). Pero BACH mismo niega que en todos los fermentos oxidantes exista el constituyente metálico, y tiende a explicar la función por el mecanismo ya citado de la activación del oxígeno por medio de la formación de peróxidos.

b) TEORÍA DE LA ACTIVACIÓN DEL HIDRÓGENO.

En las oxidaciones de que hemos hablado hasta ahora, sólo hemos tenido presente la oxidación por medio de aporte de oxígeno al cuerpo que hay que oxidar. Es necesario añadir que existen numerosos procesos de oxidación fundados en la *sustracción de hidrógeno* del cuerpo en cuestión, o sea en la *deshidrogenación* de éste.

En realidad son verdaderas oxidaciones la transformación de NH_3 o de N_2H_4 (hidracina) en nitrógeno, de SH_2 en azufre y del ácido sulfuroso en sulfúrico, la última de las cuales se verifica así:

$$SO_2\begin{matrix}H\\OH\end{matrix} \xrightarrow{-2H} SO_3;\ SO_3 + H_2O \longrightarrow H_2SO_4,$$

y es, por consiguiente, una deshidrogenación seguida de hidratación. La conversión del ácido yodhídrico en yodo también es una oxidación (1). En Química orgánica son numerosísimos los ejemplos: es una oxidación la deshidrogenación de una cadena saturada de átomos de C, con formación de dobles enlaces:

$$H-C-C-H \longrightarrow C=C;$$

y de una manera típica puede incluirse en este tipo la oxidación del alcohol a aldehido:

$$-C\begin{matrix}H\\H\\HO\end{matrix} \longrightarrow -C\begin{matrix}H\\O,\end{matrix}$$

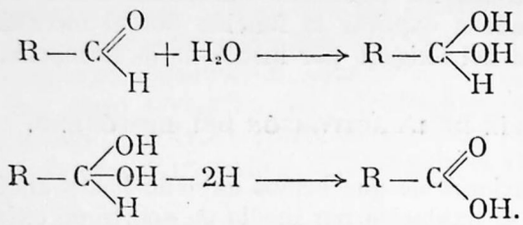
Hasta la oxidación del aldehido a ácido se incluye en estas oxidaciones por sustracción de hidrógeno, si se considera que, como casi siempre, el aldehido también es atacado *in vitro* en medio acuoso y que, por lo tanto, no es el aldehido propiamente dicho el que es deshidrogenado, sino el *hidrato del aldehido.*

(1) En efecto, para reconocer el agua oxigenada, se emplea la siguiente reacción que pone en evidencia la acción *oxidante* de este peróxido; se toma una solución de engrudo de almidón con yoduro de potasio, se acidula y después se añade el agua oxigenda; se tiene:

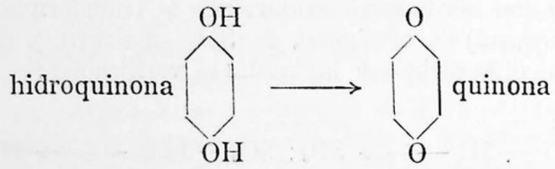
$$2KI + H_2O_2 = 2KOH + I_2,$$

y el yodo libre tiñe de azul el engrudo de almidón.

Se tiene, pues, en este caso:



Por deshidrogenación muchos cuerpos fenólicos se transforman en quinonas



las cuales tienen frecuentemente propiedades cromáticas: he aquí cómo oxidando los cuerpos fenólicos por un proceso de deshidrogenación, se originan cuerpos coloreados. También sería una deshidrogenación la conversión del blanco de índigo en azul de índigo.

¿Qué se hace del hidrógeno liberado? Este debe ser fijado por un cuerpo que actúa de *aceptador del hidrógeno* y, por lo tanto, que debe tener afinidad con él. Pero a esto sigue la pregunta de cuál puede ser el aceptador del hidrógeno. Muchas veces es el oxígeno libre, como sucede según WIELAND en las oxidaciones intraorgánicas: el oxígeno molecular que la sangre lleva a los tejidos no es generalmente activado y después fijado a los substratos orgánicos, sino que, por el contrario, es simplemente utilizado como aceptador del hidrógeno, con el cual reacciona como hemos visto más arriba, igual que en la conocida experiencia del gas detonante (mezcla de H_2 y O_2), formando primero H_2O_2 de esta manera:

$$O_2 + 2H = H_2O_2;$$

y después, con más H, así:

$$H_2O_2 + 2H = 2H_2O,$$

siendo el agua el producto final de la oxidación. Pero en lugar del oxígeno pueden encontrarse otros aceptadores de hidrógeno, tales como la misma agua oxigenada. WIELAND explica de la siguiente manera la acción de las numerosas peroxidasas u oxidasas indirectas: el H_2O_2 no es escindida para oxidar con el O atómico el substrato (por ejemplo, la tintura de guayaco o la bencidina) sino que en vez de O activado,

nos encontramos con hidrógeno activado, extraído del substrato, que reacciona formando agua con el H_2O_2. La acción enzimática consiste en facilitar la separación del hidrógeno del substrato; es una acción por la cual la enzima, en vez de llamarse peroxidasa, es designada por WIELAND con el nombre de *dehidrasa* o *deshidrogenasa*.

Se desprende de esta teoría que nunca nos encontramos con una acción puramente oxidante, separada e independiente de otra reductora, sino que hay siempre óxido-reducciones, enlazadas formando un verdadero *par de reacciones* en las cuales, sin embargo, el elemento activo es el hidrógeno. En la teoría de BACH, según la cual teníamos un cuerpo fijador del oxígeno que formaba un peróxido y que luego, reduciéndose, lo volvía a ceder a otro cuerpo que se oxidaba a su vez, se encuentra también el concepto de óxido-reducción acoplada, pero en ella es el oxígeno el que pasa de un cuerpo a otro. Por el contrario, en la teoría de la deshidrogenación es el hidrógeno el que pasa del cuerpo oxidable a otro que actúa de aceptador, el cual, como *fija hidrógeno*, se dice que es *reducido*.

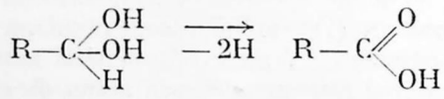
Las acciones enzimáticas no atacan, pues, al oxígeno molecular ni a cualquier otro aceptador equivalente del hidrógeno, sino al substrato, en el cual puede admitirse que se opera una especie de labilización de las uniones atómicas, gracias a la cual los átomos de hidrógeno pueden salir del complejo atómico de la molécula.

Según las investigaciones de FREUNDLICH, en presencia de carbón como adsorbente, el ácido oxálico es rápidamente quemado; según WARBURG y NEGELEIN (1), también son rápidamente oxidados los aminoácidos y en opinión de WIELAND se debería admitir que el adsorbente, el carbón animal que en este caso actúa de catalizador fijando a sus partículas las moléculas del compuesto orgánico por medio de las valencias accesorias, afloja en cierto modo las uniones entre los átomos del mismo compuesto y así permite la fácil deshidrogenación con tal que sea prontamente adsorbido en la superficie el aceptador de hidrógeno que en esta experiencia, sencilla pero fundamental, es el oxígeno atmosférico. También el platino subdividido (esponja, negro de platino, etc.) y el paladio, son conocidos especialmente como catalizadores activos en muchas reacciones de oxidación por deshidrogenación (por ejemplo, del alcohol a aldehido), y el mecanismo que las rige, en el cual quizá entran en juego fuerzas químicas oscuras que actúan entre los catalizadores y el substrato deshidrogenable, es, según WIELAND, siempre el mismo. En otro orden de hechos, puede considerarse que los catalizadores de los procesos de deshidrogenación orgánica, que durante mucho tiempo se han conocido con el nombre de oxidasas, sean también *deshidrogenasas* o *deshidrasas*, como los citados catalizadores inorgánicos, dotados de electividad mayor o menor para ciertos substratos. Se trata, pues, de *óxido-reductasas*, si queremos expresar el hecho de la deshidrogenación (= oxidación) e hidrogenación

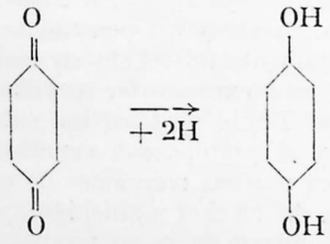
(1) *Bioch. Zeitschr.*, vol. CXIII, 1921.

(= reducción) acopladas; pero como para los procesos intraorgánicos lo esencial es la deshidrogenación, que se desenvuelve a expensas de los materiales protoplasmáticos, mientras que, por lo menos teóricamente, existe una gran libertad de elección entre los aceptadores posibles, es más justo hablar de deshidrasas, de enzimas deshidrogenantes más o menos adaptadas a los distintos materiales orgánicos. No existen, pues, como se ha creído durante mucho tiempo, oxidasas y reductasas, fermentos oxidantes y (como antagonistas suyos) fermentos reductores, sino solamente fermentos catalizadores de la reacción acoplada de óxido-reducción. Depende del dispositivo adoptado el que se pongan principalmente en evidencia las acciones oxidantes o las reductoras; tal sucede, por ejemplo: en la conocida *reacción de* SCHARDINGER de la leche fresca, que ha hecho creer en la presencia de reductasas: si se añade formaldehido a la leche fresca y además azul de metileno, éste se decolora, porque es reducido a una leucobase incolora. Actualmente se sabe que la reducción del azul de metileno, colorante de estructura quinoide, consiste en una hidrogenación en la cual el colorante es, por lo tanto, el aceptador, y en la reacción de SCHARDINGER se presenta el caso de una oxidación del aldehido a ácido (también puede servir el aldehido salicílico, que se transforma en ácido salicílico) con reducción simultánea del colorante quinoide a leucobase hidroquinoide.

Por lo tanto:



Aldehido (hidrato)



Colorante quinoide Leucobase

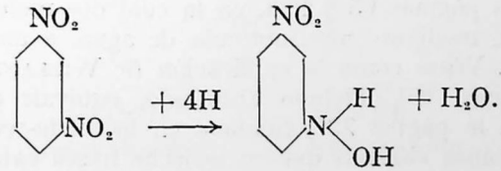
Evidentemente en la leche fresca existe un catalizador que acelera una y otra reacción. Contiene, por lo tanto, una óxido-reductasa, que sin embargo a nosotros nos hace preferentemente el efecto (casi podríamos decir la ilusión óptica) de una reductasa, porque *vemos* solamente la decoloración del azul de metileno, la fase reductora.

Al contrario, en el caso de muchos cromógenos (fenoles, etc.), que son oxidados mientras al mismo tiempo es reducida cualquier otra substancia que se le añade (H_2O_2 o un peróxido orgánico desconocido),

lo que se observa es la reacción de oxidación (siempre = deshidrogenación) y por esto es que se ha hablado de oxidasas y de peroxidasas. Actualmente se debe considerar, según WIELAND, que algún aceptador (H_2O_2, otros peróxidos o substancias orgánicas ávidas de H) es hidrogenado, mientras es deshidrogenado un determinado substrato.

La contraprueba de que los fenómenos de oxidación consisten en deshidrogenación del substrato está en la posibilidad de producir *oxidaciones sin oxígeno*, con tal de que se verifiquen en presencia de un aceptador cualquiera del hidrógeno. El negro de paladio quema el CO (óxido de carbono) *en ausencia de oxígeno libre* y lo convierte en CO_2 (bióxido), precisamente porque el CO en presencia de indicios de agua se hidrata dando H — C(=O)—OH o ácido fórmico, por deshidrogenación del cual (y el paladio actúa *también* como aceptador de H) se obtiene CO_2. Pero existen varias substancias que sirven bien como aceptadores de H; tales como las quinonas (el azul de metileno tiene la estructura de quinona), los nitratos (que se reducen a nitritos) y el m-dinitrobenzol, estudiado por LIPSCHITZ, y actualmente está demostrado que en presencia de estas substancias y en ausencia completa de oxígeno son posibles las reacciones de oxidación que hasta ahora se creía unidas a la presencia de oxígeno libre: he aquí por qué se ha dicho que teóricamente cualquier aceptador puede sustituir a otro.

El acetaldehido puede, en presencia de quinonas o de azul de metileno, ser oxidado a ácido acético y después a CO_2 y H_2O; y, finalmente (1), la glucosa puede ser quemada en gran parte, de una manera que podríamos llamar anaerobia, hasta los productos terminales a que llega el organismo, CO_2 y H_2O. La acción de las alcoholoxidasas de las bacterias acetificantes, que parecía el modelo de las fermentaciones *oxidantes*, puede también ponerse de manifiesto fuera del contacto del aire, con tal de que se empleen quinonas o azul de metileno como aceptadores. LIPSCHITZ (2), GOTSCHALK y HERTWIG (3) han visto que frecuentemente el m-dinitrobenzol es un aceptador apropiado porque con hidrógeno se reduce a m-nitrofenilhidroxilamina (amarilla):

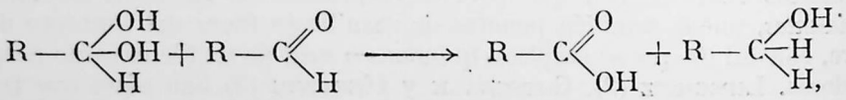


El m-dinitrobenzol puede en muchos casos sustituir, por decirlo así, al oxígeno libre: por ejemplo, en su presencia varios ácidos orgá-

(1) WIELAND, *Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch.*, vol. XLVI, pág. 3327.
(2) *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. CIX.
(3) *Pflüger's Arch.*, vol. CXCI.

nicos son oxidados (= deshidrogenados); el tejido muscular lo reduce en ausencia del oxígeno, como si respirase con él en vez de hacerlo con el oxígeno, mientras que si el músculo se encuentra al mismo tiempo en presencia de abundante oxígeno libre, no lo reduce, como si entre el O_2 y este cuerpo hubiese una cierta competencia. Los narcóticos inhiben la respiración del tejido con dinitrobenzol de la misma manera que la respiración normal con oxígeno; la destrucción completa de la estructura celular anula las dos formas de respiración. Los espermatozoos, que han detenido sus movimientos en una atmósfera de hidrógeno, vuelven a adquirir su movilidad añadiendo dinitrobenzol, del mismo modo que al sustituir la atmósfera de hidrógeno por una de oxígeno. También las bacterias vivas reducen el m-dinitrobenzol, de donde la utilidad del empleo de este cuerpo en varios problemas quimioterápicos y bacteriológicos (1). Con el método del m-dinitrofenol se pueden estudiar cómoda y sencillamente, por lo menos como orientación, los procesos respiratorios de los tejidos separados: así Rondoni ha estudiado recientemente la influencia de la tuberculina sobre los tejidos normales y tuberculosos (2).

Hemos visto hace poco que también los aldehidos, hidratándose, podían obrar como liberadores de hidrógeno y, por lo tanto, podían ser deshidrogenados, con tal de que hubiera un aceptador adecuado; añadamos ahora que pueden actuar de aceptadores y transformarse en alcohol fijando 2H. Si recordamos que los aldehidos en solución acuosa están siempre en un estado de hidratación parcial, y que entre las moléculas hidratadas y las no hidratadas existe un estado de equilibrio, podemos también imaginarnos fácilmente que el aldehido hidratado reacciona con el no hidratado de la siguiente manera:



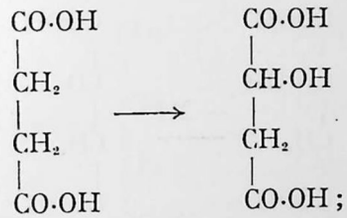
en donde el aldehido hidratado cede 2H al no hidratado que actúa de aceptador. Esta reacción no es más que la *reacción de* Cannizzaro, ya citada en las páginas 65 y 238, en la cual dos moléculas de aldehido dan origen, mediante una molécula de agua, a una de alcohol y a una de ácido. Véase cómo la explicación de Wieland, que admite la deshidrogenación del aldehido hidratado, equivale a la expuesta por nosotros en la página 237, fundada en la óxido-reducción hidroclástica. Las mismas enzimas que en la leche fresca catalizan la reacción de deshidrogenación del aldehido salicílico o fórmico, hidrogenando el azul de metileno, son capaces de catalizar una verdadera reacción de Cannizzaro: en efecto, la leche fresca transforma, en ausencia de oxígeno, el aldehido salicílico en cantidades equivalentes de ácido salicílico y alcohol salicílico. Incluso las *aldehidomutasas* o

(1) Lipschitz, *Centralbl. f. Bakt. Orig.*, vol. XC, fasc. 7-8, 1923.
(2) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XLII, fasc. 1-3, 1924.

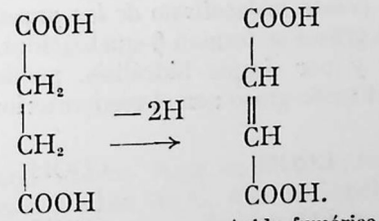
fermentos que aceleran la dismutación de los aldehidos o reacción de Cannizzaro, no son más que enzimas deshidrogenantes, verdaderas dehidrasas.

Actualmente, Battelli y Stern (1) y Parnas (2) afirman la presencia de *alcoholoxidasas*, de *aldeasas*, de *aldehidomutasas* en los tejidos animales, o sea, de todos los fermentos del grupo de las óxido-reductasas, catalizadores de deshidrogenaciones (= oxidaciones) y de las hidrogenaciones correspondientes (= reducciones) con aceptadores diversos, que para los tejidos es comúnmente el O_2 libre.

La teoría de la deshidrogenación no se limita a la explicación de oxidaciones relativamente sencillas, como las del alcohol o de los aldehidos. Intenta colocar bajo su dominio las oxidaciones de los cuerpos más complejos, con largas cadenas de átomos de C, como por ejemplo los ácidos grasos superiores, que son tan difícilmente atacables. La teoría se apoya en las notables investigaciones de Thunberg (3) y de Battelli y Stern (4) acerca de la posibilidad que tienen los tejidos animales de oxidar el ácido succínico a ácido málico y, por lo tanto, de emplear el ácido succínico como substrato de la respiración:



pero sobre todo de transformar el ácido succínico en fumárico, en ausencia de O_2. En efecto, Thunberg ha visto que el músculo, en presencia de azul de metileno como aceptador, realiza esta verdadera deshidrogenación:

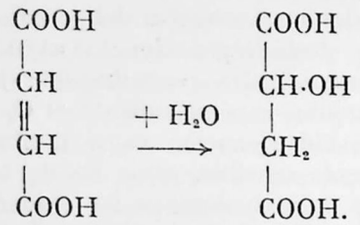


Acido succínico — Acido fumárico

Este ácido fumárico presenta un doble enlace (como el ácido oleico) que ha aparecido por efecto de la deshidrogenación. Pero el ácido fu-

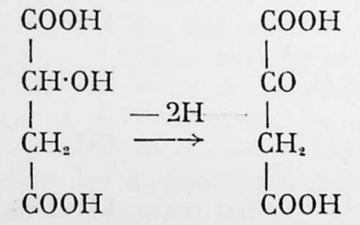
(1) *Bioch. Zeitschr.*, vol. XXVIII, XXIX y XXX.
(2) *Id.*, vol. XXVIII.
(3) *Skandin. Arch. f. Physiol.*, vol. XXII, XXXV y XL.
(4) *Compt. rend. de la Soc. de Biol.*, vol. LXXXIII y LXXXIV; *Arch. internat. de Physiol.*, vol. XVIII, pág. 403, 1921.

márico puede, por la actividad de los tejidos, ser hidratado y convertirse en ácido málico (BATTELLI y STERN), por lo cual estos autores hablan de una *fumarasa* de los tejidos, que sería también una *hidratasa* o enzima hidratante :



Acido fumárico — Acido málico

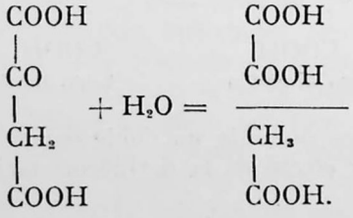
Con esta hidratación el substrato está *preparado*, por decirlo así, para sufrir una nueva deshidrogenación, la cual se realiza a expensas del grupo alcohólico secundario CHOH, muy accesible a ella :



Acido málico — Acido oxalacético o quetosuccínico

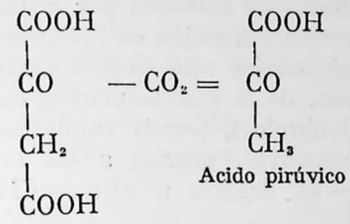
y he aquí la aparición de un grupo quetónico CO y, por lo tanto, la formación de un quetoácido. En realidad sabemos, y lo veremos aún mejor muy pronto (véase *metabolismo de las grasas)*, que en las oxidaciones de los ácidos grasos se forman β-quetoácidos.

En este punto y por simple hidrólisis, puede fragmentarse fácilmente la cadena del ácido graso ; en el caso anterior tenemos :



Habíamos partido de un ácido bibásico, y tenemos finalmente ácido acético y ácido oxálico. También puede obtenerse, a expensas

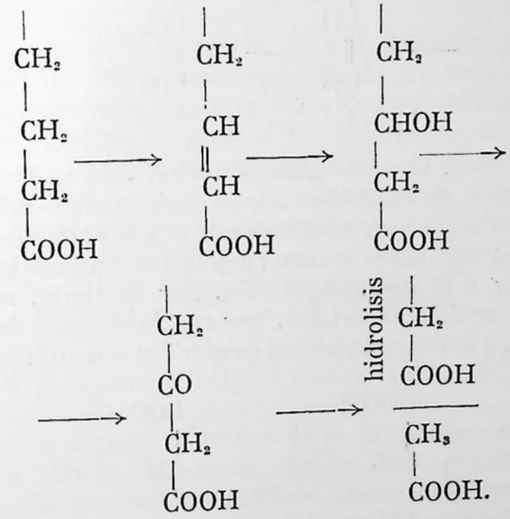
de un quetoácido (en el caso precedente un ácido quetosuccínico o oxalacético), una descarboxilación de esta manera :



Acido pirúvico

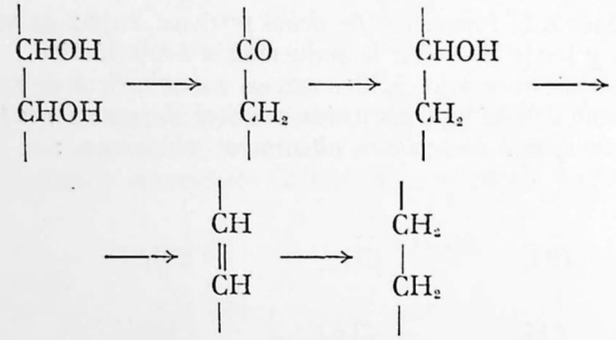
la cual conduce a la formación de *ácido pirúvico*, capaz de varias transformaciones y hasta de sufrir la reducción a ácido láctico.

Si ahora aplicamos a los ácidos grasos monobásicos de cadena larga este mecanismo de acción, constituído por *deshidrogenaciones* (catalizadas por deshidrasas) e *hidrataciones alternadas*, tendremos :

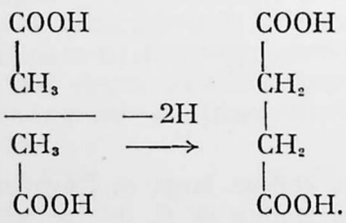


De este modo una cadena larga es fragmentada de manera que pierde los dos últimos átomos de C, que se separan formando ácido acético y dejando una cadena con dos átomos menos de C. Este es, como luego veremos con más detalles, el camino corrientemente empleado por los procesos de oxidación a expensas de los ácidos grasos del cuerpo, con formación de β-quetoácidos y separación sucesiva de dos átomos de C cada vez (por esto los ácidos grasos del cuerpo, que han partido todos de ácidos de 18 ó 16 átomos de C, tienen siempre números pares de átomos de C). La teoría de WIELAND proporciona una hipótesis (fundada en algunos hechos seguros, pero limitados, como la deshidrogenación del ácido succínico) para explicar, *sin intervención*

de oxígeno activo, este complejo proceso de oxidación. Fijándonos en las fórmulas antes expuestas, podemos ver también que por deshidrogenación e hidratación aparecen los grupos CHOH, tal como los encontramos en los hidratos de carbono, por lo cual se podría creer en la posibilidad de una transformación de las grasas en hidratos de carbono por este mecanismo. En este caso el proceso opuesto, tan frecuente en el organismo, de la transformación de los hidratos de carbono en grasas (endotérmico), podría explicarse por hidrogenaciones y deshidrataciones sucesivas, gracias a las cuales de una cadena — CHOH — CHOH — se llegaría a otra — CH_2 — CH_2 —, de este modo:



Volviendo, pues, al ácido graso superior, éste se fragmentaría durante los procesos de oxidación intraorgánica dando tantas moléculas de ácido acético como correspondiesen a la mitad de sus átomos de C; ¿qué se hace de este ácido acético? Según las experiencias de los químicos, éste resiste a la deshidrogenación. Por lo tanto, se supone que se transforma en ácido succínico, por medio de una *deshidrogenación* intermolecular, que transcurriría así (según THUNBERG):

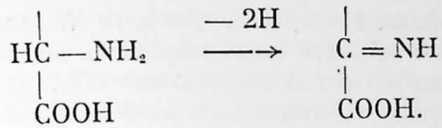


Ahora bien, se ha visto que el ácido succínico es fácilmente deshidrogenable más tarde, y en los tejidos lo es ampliamente, ya que la dehidrasa correspondiente está muy difundida. EINBECK (1) ha encontrado en el músculo fresco el ácido succínico y el fumárico, que serían, por lo tanto, productos intermedios del metabolismo, dotados de gran importancia.

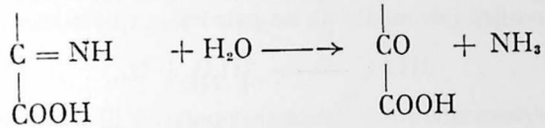
(1) *Zeitschr., f. physiol. Chem.*, vol. LXXXVII y XC.

Finalmente, THUNBERG ha visto que el músculo puede deshidrogenar (en presencia de azul de metileno como aceptador) una gran cantidad de ácidos grasos: mesotartárico, butírico, caproico, etc.

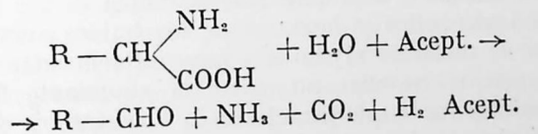
La combustión de los aminoácidos puede realizarse también por este mecanismo, o sea sin O_2 libre. El grupo característico de los aminoácidos es deshidrogenado, dando una imina:



La imina puede escindirse hidrolíticamente en una quetona y NH_3:



He aquí la causa de la aparición de NH_3 y α-quetoácidos, que encontramos realmente en la desintegración de los aminoácidos. Hasta ahora la deshidrogenación por esta vía sólo está demostrada con certeza en el ácido glutámico; pero se ha demostrado la posibilidad de desintegrar los aminoácidos sin oxígeno libre por medio de la llamada *reacción de* STRECKER, en la cual la *aloxana* hace de aceptador y el aminoácido se transforma en un aldehido con un átomo menos de C:



Actualmente se explica la acción de la tirosinasa por esta *reacción de* STRECKER, según la cual dicha enzima sería un sistema complejo de enzimas, de los cuales la primera en obrar sería una *desaminasa* o *aminoacidasa;* ésta transformaría la tirosina en aldehido oxifenilacético, en presencia de aceptadores, y el aldehido aromático sería después oxidado y condensado (por verdaderas oxidasas?).

De todas maneras parece por lo menos posible que la desaminación de los aminoácidos pueda verificarse sin la presencia de oxígeno libre, por medio de una activación del hidrógeno.

Es necesario advertir que por ahora no se ha sabido interpretar con claridad suficiente y conforme al mecanismo de la deshidrogenación, la función oxidante de la uricasa, importante enzima intercalada en el metabolismo purínico.

Según este modo de ver, la vida aerobia y la anaerobia (como la de ciertas bacterias, protozoos, gusanos intestinales, etc.) tendrían

muchos puntos de contacto: entraría siempre en juego un fenómeno de deshidrogenación a expensas de las substancias orgánicas; sólo variaría el aceptador, que sería el oxígeno en la vida aerobia y estaría representado por otros cuerpos hidrogenables en la anaerobia. En las experiencias de LIPSCHITZ, las células anaerobias de la musculatura del *Ascaris megalocephala* reducen perfectamente el m-dinitrobenzol.

Será oportuno insistir aquí sobre los fermentos citados en la página 239: las *catalasas*. Estas, en la teoría de WIELAND, tendrían una función importante: así como en la respiración aerobia, el primer término de la combinación del H con el O es el H_2O_2 (pág. 518), también deben existir enzimas aceleradoras de la escisión de H_2O_2 en H_2O y oxígeno molecular, porque este peróxido, H_2O_2, es tóxico y alteraría profundamente la integridad química del protoplasma. Es necesario, pues, que el peróxido de hidrógeno sea eliminado lo más pronto posible, y esto se realiza por medio de las catalasas, que aceleran la reacción:

$$2H_2O_2 \longrightarrow 2H_2O + O_2.$$

Entiéndase bien que no se trata de poner en libertad oxígeno activo o atómico, sino oxígeno molecular.

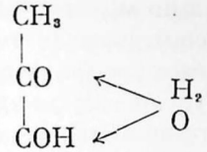
Adviértase ahora que en los organismos anaerobios faltan las catalasas, y esta es una contraprueba de su función, que podríamos calificar de colateral a la respiración por medio del oxígeno libre como aceptador. Las catalasas son sensibilísimas a la acción inhibidora del ácido cianhídrico: se sabe que el HCN es un veneno típico de la respiración interna y puede suponerse que actúa alterando las catalasas y perturbando así el delicado mecanismo de la deshidrogenación de los tejidos. En realidad, la respiración anaerobia de las levaduras de la fermentación alcohólica y hasta la de los tejidos animales en presencia de azul de metileno (1) no son muy influenciadas por el HCN, precisamente porque en ellas no existe la abundante formación de peróxido de hidrógeno, lo que caracteriza la vida aerobia de los tejidos.

Si fuese cierto que las vitaminas son aceleradoras de los procesos de oxidación y, como han considerado algunos, estuviesen relacionadas con las catalasas, su ausencia debería conducir a efectos semejantes a los de un envenenamiento crónico por el HCN; he aquí un punto que merecería ser aclarado. También deben existir puntos de contacto entre la acción crónica del H_2O_2 y la avitaminosis.

En esta teoría se acepta plenamente la fermentación alcohólica como verdadera respiración anaerobia; teniendo en cuenta lo dicho en el capítulo V, *d)* de la Primera Parte, vemos que, desdoblando la cadena de 6 átomos de carbono en dos cadenas cortas de 3 átomos y llegando a través del glioxal al aldehido pirúvico, podemos imaginar que lo hidratamos y deshidrogenamos siguiendo el esquema tantas veces repetido, con lo cual llegaremos al ácido pirúvico si operamos en presencia de un aceptador, que en el tipo fundamental de fermentación

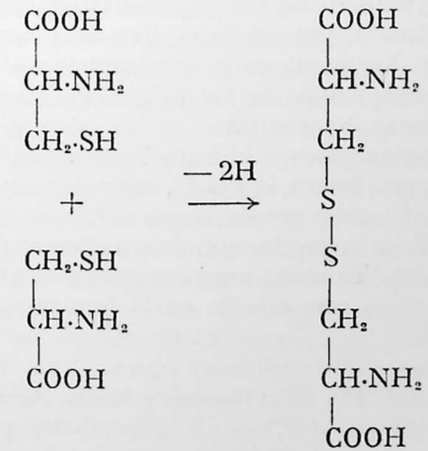
(1) MEYERHOF *Pflüger's Arch.*, vol. CLXIX, CLXX y CLXXV.

es el aldehido acético. Si reflexionamos sobre esto, vemos que en el fondo no hay una gran diferencia con el mecanismo *hidroclástico*, entonces descrito por razones de sencillez y para no anticipar nociones demasiado distintas. Las investigaciones que citaremos a propósito del metabolismo de los hidratos de carbono demuestran que en las primeras fases la acción de las células de los animales superiores sobre la glucosa se verifica de una manera semejante a lo que se ha visto en las fermentaciones por la acción de las levaduras y, por lo tanto, es una acción anaerobia; hay una fragmentación simétrica de la cadena de la glucosa y formación de cuerpos con tres átomos de C, que son sucesivamente el aldehido glicérico, el metilglioxal y después, quizá gracias a una *reacción interna de* CANNIZZARO:



por la cual el grupo aldehídico se transforma en ácido y el quetónico en alcohólico, se obtiene ácido láctico; en éste se inicia luego el ataque deshidrogenante con efecto térmico positivo (reacción exotérmica), el cual pasa por los períodos sucesivos de ácido pirúvico — aldehido acético — ácido acético (aceptador del oxígeno libre).

WIELAND no desconoce que existen procesos respiratorios no influenciados por acciones enzimáticas verdaderas y propias. En efecto, hay actividades reductoras en el protoplasma, tales como respecto al S elemental, a los nitratos, seleniatos, teluratos, etc., que no pueden ser aceleradas por ninguna enzima, sino que se deben a la presencia en el protoplasma de grupos atómicos reductores, como el sulfhidrilo — SH. El grupo — SH se encuentra en la cisteína, la cual es fácilmente deshidrogenada (= oxigenada) y convertida en cistina, combinándose con sí misma; al pasar el sulfhidrato a disulfuro hay, pues, una deshidrogenación evidente:



HOPKINS (1) ha descubierto en las levaduras, y más tarde hasta en los tejidos animales, un dipéptido compuesto por cisteína y ácido glutámico, que ha denominado *glutation*.

En este dipéptido se verifica con facilidad el paso del grupo — SH al grupo — S — S —. Esto significa que dicho dipéptido puede aparecer como sulfhidrato o como disulfuro: el sulfhidrato (es decir, el complejo: ácido glutámico + cisteína) es un reductor porque cede fácilmente H, por ejemplo, al oxígeno, con cuyo H forma agua; en cambio, el disulfuro (o sea el complejo: ácido glutámico + cistina) es un oxidante, en el sentido de que fácilmente recobra H para regenerar el sulfhidrato, sacándolo de distintos cuerpos, respecto a los cuales obra como aceptador-donador de H o de catalizador por transporte, ya que toma H (por ejemplo, a un substrato del protoplasma), lo vuelve a ceder (por ejemplo, al oxígeno), luego lo vuelve a tomar, y así sucesivamente. Es probable que este cuerpo, o cuerpos semejantes, tenga gran importancia en la activación de las oxidaciones (deshidrogenación) intraorgánicas. Es interesante que la *dirección* en que se transforma el dipéptido de HOPKINS depende de la reacción del medio: para un pH = 6,8, por lo tanto con una reacción ligeramente ácida, el sulfhidrato es estable, o sea que el disulfuro toma H, pero no lo vuelve a ceder; para un pH = 7,4, o sea una reacción ligeramente alcalina, es el disulfuro el que es estable, o sea que el sulfhidrato cede H a un aceptador, pero no lo vuelve a tomar. La zona aproximadamente neutra, la de los tejidos orgánicos, entre pH = 6,8 y pH = 7,4 es aquella en la cual el glutation presenta reversibilidad de su acción óxido-reductora y, por lo tanto, capacidad de actuar como transportador de H.

Podemos ahora preguntarnos: ¿cómo se explica la formación del CO_2, que sabemos que con el agua es uno de los productos terminales de la oxidación completa de todas las substancias no nitrogenadas del organismo? Actualmente se cree que el CO_2 no es un producto directo de la combustión de los núcleos carbonosos de las substancias orgánicas, sino el producto de reacciones secundarias de descarboxilación, reacción acelerada por enzimas, llamadas *carboxilasas*, y cuya actividad reconoció NEUBERG en la fermentación alcohólica, pero demostradas actualmente hasta en los tejidos de los organismos superiores (BACH, BATTELLI, PALLADIN).

En las deshidrogenaciones e hidrataciones sucesivas, en las separaciones atómicas que hemos indicado, aparecen siempre grupos carboxílicos — COOH. Es muy verosímil que el CO_2 se desprenda de ellos, y esto debería explicar la producción de una buena parte por lo menos del CO_2 en los tejidos. También aquí encontramos una plena analogía con lo que hemos visto que sucedía en la fermentación alcohólica, en

(1) *Bioch. Journ.*, vol. XV, 1921; HOPKINS y DIXON, *Journ. of biol. Chem.*, vol. LIV, pág. 527, 1922.

donde por descarboxilación del ácido pirúvico se forma CO_2 y aldehido acético.

Tanto la teoría de la autooxidación como la de la deshidrogenación, expuesta con algún detalle, dan la mayor importancia en la respiración interna a la catálisis por medio de enzimas; pero no estamos seguros de que consigan explicar de una manera perfecta todos los fenómenos conocidos.

En el fondo continúa siendo un misterio que las substancias orgánicas más complejas sean quemadas en el cuerpo a 37°, como lo son por el método de KJELDAHL por medio de ácidos fuertes y de altas temperaturas. Una buena parte de la actividad respiratoria de los órganos va unida a la estructura física compleja del protoplasma vivo y desaparece en cuanto éste muere: el estudio de la respiración de los órganos separados y sobrevivientes (que deriva de una antigua experiencia de SPALLANZANI) repetido por BATTELLI y STERN con especial precisión, ha demostrado que hay una respiración *principal*, que es destruída por todo lo que lesiona la estructura vital del protoplasma, y una respiración *accesoria* que prosigue aun después de intervenciones más o menos alterantes.

Las teorías modernas, que en parte son brillantes hipótesis de trabajo basadas sobre pocos hechos seguros, no reducen la complejidad de los fenómenos, que representan la característica fundamental y quizá la esencia más íntima de los procesos vitales. Lo cierto es que *estos complejos fenómenos de oxidación no se desarrollan en la sangre*, sino en la intimidad de los tejidos y, según la opinión de los fisiólogos más modernos, no precisamente a expensas de la trama *viva* del protoplasma, que es relativamente estable (TIGERSTEDT), sino en íntimo contacto con ella, a expensas de las substancias nutritivas elementales concentradas allí.

Como sostiene VOIT, las oxidaciones no atacarían, por lo tanto, a las proteínas ya organizadas en forma de protoplasma viviente, sino a los aminoácidos no utilizados para la síntesis de aquéllas, procedentes de la absorción intestinal, así como a las substancais ternarias. No se realizaría, pues, una síntesis complicada y dispendiosa del protoplasma seguida de una pronta desintegración del mismo, sino que en contacto del protoplasma vivo, ya construído y sólo muy lentamente renovado, arderían en la llama misteriosa de la vida los principios elementales (por ejemplo, aminoácidos y azúcar) que son acarreados por la sangre y que poco a poco son adsorbidos por él.

A pesar de este carácter fundamental de los procesos celulares de oxidación, la Patología no se había ocupado mucho de ellos. Y, sin embargo, ¡quién sabe a cuántos resultados interesantes podría conducir un estudio profundo de estos fenómenos en los distintos estados morbosos! Al tratar de las avitaminosis nos hemos podido formar una ligera idea de las inmensas posibilidades de estas investigaciones, que también podrían abrir caminos muy útiles a las cuestiones de inmunidad y de quimioterapia. El que esto escribe se ha preguntado

muchas veces si ciertas bacterias patógenas ávidamente aerobias no podrían ser modificadas en su vitalidad en el seno de los tejidos si se debilitaban en éstos, o en las mismas bacterias los procesos de oxidación, o si se desviaban de alguna manera de sus vías regulares; quizá sea una indicación en este sentido la conocida acción curativa de la estasis venosa en las formas tuberculosas y la acción inhibidora ejercida por los cianuros sobre el desarrollo de los *bacilos de* KOCH (KOGA, RONDONI).

¿No podrían encontrarse aceptadores de hidrógeno, para razonar según la teoría de WEILAND, distintos del oxígeno atmosférico, que modificasen de una manera aprovechable para los efectos terapéuticos los procesos respiratorios del huésped y del parásito, y rompiesen el lazo recíproco, por supuesto a beneficio del primero? Hace muchos años, antes de que apareciesen estas concepciones modernas, me propuse ensayar si, reduciendo los procesos de oxidación en el organismo de los animales (ratas) portadores de tumores, mediante el envenenamiento crónico por los cianuros, se podía limitar el desarrollo de la neoplasia: los resultados fueron poco claros, por la mortalidad precoz de las ratas, debida a la alta toxicidad de los cianuros. Pero, sin embargo, las experiencias en este sentido podrían ser fructíferas.

Actualmente los procesos de oxidación en las células de los tumores han sido estudiados en Inglaterra por RUSSEL y WOGLOM (1), los cuales encuentran, por el contrario, que las células del cáncer consumen menos O_2 que las normales, pero con notables diferencias entre ellas mismas: las que se multiplican intensamente consumen bastante más O_2 que las de proliferación menos rápida. WARBURG y MINAMI (2) encontraron después que el tejido neoplásico produce mucho más ácido láctico, procedente de la glucosa, que el tejido normal y suponen que el tejido neoplásico ofrece, además de la respiración aerobia común, una especie de respiración anaerobia del tipo de una fermentación. NEUSCHLOSS (3) confirmaría que — contrariamente a mis antiguas suposiciones — la respiración de las células del tumor, medida por la reducción del m-dinitrobenzol según el ya citado principio de LIPSCHITZ, no es influenciada tan fuertemente en sentido negativo por el ácido cianhídrico como lo es la respiración del tejido normal; esto prueba que se trataría verdaderamente de un proceso del tipo de la fermentación, no influenciable por los cianuros (también el tejido de *Ascaris*, gusano de vida anaerobia, reduce el m-dinitrobenzol, pero con influenciabilidad escasa por parte del HCN).

NEUSCHLOSS encuentra también el hecho interesante de que todos los tejidos de las ratas portadoras de sarcoma reducen menos, o sea que respiran menos, que los tejidos correspondientes de las ratas normales; sólo se exceptúa el bazo, que tiene un poder reductor enérgico

(1) *Scientif. Rep. of the Imper. Cancer Research Fund.*, 1921.
(2) *Klin. Woch.*, 1923, n.° 17.
(3) *Klin. Woch.*, 1924, n.° 2.

en las ratas con tumores, quizá en relación con su pretendida acción defensiva.

Actualmente, el estudio del metabolismo de la célula neoplásica ha hecho grandes progresos merced a los profundos estudios de WARBURG y sus discípulos. Volveremos a hablar de esto cuando, en el capítulo III de la Sec. III, trataremos de los procesos de desintegración de los hidratos de carbono, porque en esto estriban las especiales características ya indicadas: predominio de los fenómenos de escisión anaerobia de la glucosa en comparación con los de oxidación (respiración verdadera). El tumor parece que recurre a una reacción de simple escisión mejor que a una oxidación para proporcionarse energía.

CAPÍTULO IX

Acción biológica de la luz

Otra cuestión más biofísica que bioquímica, pero que no podemos pasar en silencio, es la referente a las acciones biológicas de las radiaciones luminosas. En realidad, esta cuestión debe incluirse a su vez en el estudio de las acciones biológicas de las distintas formas de energía radiante.

La energía radiante, que determina la formación de ondas etéreas transversales que se propagan con la velocidad de 300 000 km. por segundo, comprende ondas de distinta longitud que, por orden de amplitud decreciente, podemos agrupar del siguiente modo:

Radiaciones eléctricas.

Radiaciones térmicas (oscuras), de las cuales las de onda más corta, entre 60 000 μμ y 760 μμ de longitud, se llaman rayos infrarrojos.

Radiadiones luminosas: son las que tienen longitudes de onda comprendidas entre 760 μμ y 400 μμ. Son las únicas que impresionan la retina, y, por lo tanto, las únicas que son perceptibles en forma de luz: de éstas, las de onda más larga (rojo-amarillo) tienen todavía efecto térmico, y las de onda más corta (hacia el violeta) son las más ricas en efectos *químicos*.

Radiaciones ultravioletas: longitud de onda inferior a 400 μμ y que puede llegar hasta 100 μμ; también se llaman rayos químicos o actínicos.

Cercanas a las radiaciones ultravioletas tenemos los rayos Röntgen, que, sin embargo, son menos penetrantes y son producidos por choques menos regulares del éter. Los rayos Röntgen y los ultravioletas tienen la propiedad común de producir la separación de electrones de las superficies metálicas sobre las cuales caen, y estos electrones lanzados a gran velocidad constituyen los rayos catódicos (y los rayos del radio), los cuales a su vez pueden producir rayos Röntgen si chocan con otras superficies metálicas. Además, los rayos ultravioletas y los rayos Röntgen ionizan las mezclas gaseosas, o sea que las hacen conductoras de la electricidad. También los rayos γ del radio pertenecen a este grupo de radiaciones de onda corta.

Para completar, recordemos que no deben confundirse las radiaciones verdaderas u ondas etéreas (más o menos transmisibles a los electrones) con las *radiaciones corpusculares*, como los rayos catódicos ya citados y los rayos β del radio, que son un verdadero haz de electrones negativos, y los rayos canales o anódicos y las radiaciones α del radio, que son un haz de electrones positivos. En las radiaciones corpusculares nos encontramos, pues, con una verdadera disgregación atómica y dispersión de electrones (positivos o negativos) constituyentes del átomo; no se trata, por consiguiente, de verdaderas radiaciones, de ondulaciones del medio interatómico universal — actualmente, sin embargo, puesto en duda —, que es el éter.

Dejando aparte todo lo referente a la acción del radio con sus diversas radiaciones, de los rayos Röntgen, etc. (1), limitémonos a tratar de las acciones luminosas verdaderas y propias, o sean las del espectro visible, y de la acción de los rayos ultravioletas, porque en ellos es donde se encuentran los efectos verdaderamente químicos. La parte menos refrangible del espectro visible (luz roja, amarilla, etc.) no está del todo privada de acción biológica; tiene por lo menos una acción térmica (calor luminoso) que es más penetrante que la acción térmica del calor oscuro, y, por lo tanto, puede suponerse que no solamente llega a las capas tegumentales externas, sino también a las capas profundas, hasta la sangre. En la acción de los baños de luz, por ejemplo, es necesario ver, además del efecto químico de los rayos de onda más corta, también la acción térmica de los rayos calientes luminosos. Pero la acción química de la luz corresponde principalmente a los rayos luminosos de onda corta (parte más refrangible del espectro) y a los rayos no visibles, de onda aún más corta ($\lambda < 400$ μμ) o rayos ultravioletas. Las fuentes luminosas corrientes contienen mayor o menor cantidad de rayos de acción química (azul-violeta y ultravioletas): el sol es muy rico en ellos, así como la luz de la lámpara de arco (con carbón). Existen lámparas (de mercurio) que dan una luz especialmente rica en rayos ultravioletas: *el cristal es impermeable a éstos*, por lo cual estas fuentes de luz, si deben actuar en virtud de los rayos ultravioletas que de ellas emanan, deben estar revestidas de cuarzo, que es permeable (lámparas de cuarzo), y no de cristal.

Para la Biología animal son, pues, los rayos químicos (violetas-ultravioletas) los que tienen importancia, mientras que para los vegetales verdes son los rojos (y también los azules) los que forman el espectro de absorción de la clorofila y obran sobre la fotosíntesis clorofílica.

En general, los tejidos animales absorben los rayos de la zona más refractada, los violetas y ultravioletas, que son los activos, pudiendo aplicarse a las acciones biológicas de la luz la ley de GROTTHUS-DRAPER, según la cual son los rayos absorbidos los que explican cualquier acción sobre el substrato.

(1) Se encuentran muchos trabajos y datos en la Revista: *Strahlenteraphie.*

Mientras que la luz es en general favorable al cuerpo, es perjudicial frecuentemente a las células aisladas de los organismos superiores, habituadas, por decirlo así, a vivir en la oscuridad; pero ante todo y antes de hablar de las acciones bioquímicas de la luz sobre los organismos superiores, conviene estudiar su acción sobre los organismos inferiores, bacterias y protozoos.

Los rayos químicos son perjudiciales para la vida bacteriana en general, de donde se deriva el empleo de lámparas de mercurio para desinfectar (por ejemplo, el agua).

Es notable que, con una dosificación conveniente y según ha demostrado la escuela de GALEOTTI (1), los rayos ultravioletas actúan sobre las bacterias [y sobre ciertos protozoos, como el *Leishmania*, según PORCELLI-TITONE (2)] inhibiendo su multiplicación, pero no la motilidad, si son organismos móviles, por lo tanto sin matarlos. Los rayos ultravioletas revelan, por decirlo así, una electividad de acción fisiológica y demuestran que las estructuras protoplasmáticas relacionadas con la motilidad son diversas de las que están relacionadas con la multiplicación (otros agentes puramente químicos obran de la misma manera; tal sucede, según GONDER, CASTELLI, RONDONI y GORETTI, con el salvarsán sobre los tripanosomas). Se comprende que con acciones más intensas se obtiene la muerte de las bacterias.

Es curioso el hecho de que los medios de cultivo irradiados y sembrados luego con bacterias, no son favorables a su desarrollo; por lo tanto, la luz obra también indirectamente, de una manera tardía, sobre estas células. Probablemente la luz activa la formación de peróxidos por parte de cuerpos fácilmente oxidables contenidos en el medio de cultivo, y estos peróxidos explican la acción antibacteriana.

También los rayos violetas y ultravioletas tienen una acción deletérea para los protozoos; parece que en un primer tiempo haya una fugaz acción excitante.

Respecto a los organismos más elevados, se ha estudiado la acción sobre las células aisladas y sobre el organismo entero. El efecto sobre las células aisladas se refiere más que nada a las acciones llamadas fotodinámicas (véase más adelante). También determinados e importantes componentes químicos del organismo son atacados, y generalmente destruídos por la luz; así pasa con los fermentos, que en general son inactivados. Muchos compuestos orgánicos complejos son descompuestos y degradados, quizá oxidados, por la luz. Nos encontramos aquí con las llamadas acciones fotodinámicas que CIAMICIAN y SILBER, NEUBERG y otros han estudiado extensamente.

En las proteínas se observan sobre todo modificaciones del estado coloidal, en el sentido de que la dispersión disminuye hasta producirse verdaderas gelificaciones o precipitaciones: estas modificaciones de las proteínas a causa de la luz y especialmente de los rayos ultravioletas, así como por la acción de los rayos X y del radio, resumidas por BECHHOLDT (1), han sido utilizadas por SCHANZ (2) para explicar la *catarata*, tanto más cuanto ciertas precipitaciones de albuminoides por acción de la luz serían favorecidas por la acetona y el azúcar *(catarata diabética)*. Pueden producirse también verdaderas descomposiciones o escisiones hidrolíticas, con alteración sucesiva de los aminoácidos resultantes.

(1) *Ann. Instit. Pasteur*, t. XXX, n.° 2, 1916.
(2) *Pediatria*, 1916.

En las grasas y en los hidratos de carbono se observan también fenómenos de escisión hidrolítica, oxidaciones, etc. Los alcoholes son oxidados a aldehidos y éstos a ácidos. Los glucósidos se escinden en sus componentes. Como ha observado NEUBERG en una serie de brillantes investigaciones (3), estas acciones fotoquímicas son lentas en sí, pero son enormemente aceleradas por la presencia de sales de Fe, Mn y otros metales, que actúan como verdaderos catalizadores (catálisis fotoquímica). Como estos metales existen en los tejidos y en éstos se desarrollan acciones químicas debidas a la luz, es lícito pensar que actúan, como en las experiencias *in vitro*, de enérgicos activadores de los procesos de escisión y oxidación citados. En los procesos de fotocatálisis, que las más de las veces son procesos de oxidación, es probable que los metales actúen fijando y liberando alternativamente el oxígeno, y, por lo tanto, como receptores del O_2, que toman del aire y ceden a los cuerpos orgánicos de que tratamos.

Un importante punto de actuación de la luz sobre las células podrían ser los lipoides; hay algunos argumentos que permiten admitir, por ejemplo, que los rayos ultravioletas labilizan ciertos lipoides (fosfátidos) que liberarían el oxígeno unido intramolecularmente y activarían de este modo las oxidaciones de los otros componentes celulares. Es interesante añadir que las lecitinas, que no faltan nunca en las células, son luminiscentes (cuando se exponen a la luz, la absorben, y luego la emiten en la oscuridad), y esto puede tener alguna relación con las funciones de estos lipoides en las acciones fotobiológicas. STRAUSS (4) supone que los trastornos generales subsiguientes frecuentemente a las aplicaciones de rayos Röntgen se deben a la destrucción de lecitinas con liberación de colina. Para explicar la acción enérgica de los rayos ultravioletas en muchas acciones biológicas en las cuales intervienen fenómenos de oxidación, se ha pensado también que estas radiaciones, que tienen un período vibratorio semejante al de los electrones de los átomos, liberan electrones negativos (que se cree que en el átomo son periféricos, como planetas situados alrededor de un centro formado por un electrón positivo), por lo cual los substratos quedarían con carga positiva y, por lo tanto, aumentaría su avidez para el oxígeno (electronegativo). Mas no se sabe bien qué relación interna existe entre la acción fotobiológica de estas radiaciones y los fenómenos de oxidación, tanto más cuanto parece que, mientras para

(1) *Die Kolloide in Biol. u. Med.*, 3.ª edic., Dresden, 1920, pág. 154.
(2) *Pflüger's Arch.*, vol. CLXIV; *Arch. f. Ophtalmol.*, vol. XCI.
(3) Años de 1908-1916 del *Bioch. Zeitschr.*, y en *Berl. klin. Woch.*, 1917, n.° 4.
(4) *Strahlenther.*, vol. XIV, 1922.

las acciones bioquímicas (por ejemplo, bactericidas) de los rayos de onda más larga es necesaria la presencia de O_2 libre, para las acciones de los rayos de onda mas corta (ultravioletas) no es necesario el O_2 libre.

En el organismo íntegro de los animales superiores, la acción *local* de la luz se revela por fenómenos de hiperemia local, de flogosis (eritema solar, de los rayos ultravioletas de la lámpara de cuarzo, etc., que *aparecen después de un período de incubación)* y de pigmentación. En los tejidos, los rayos ultravioletas son especialmente absorbidos por la hemoglobina de la sangre y por los pigmentos, que tienen, por lo tanto, una verdadera acción protectora. Es de notar que la sangre es fotoactiva, es decir, que después de un período de iluminación puede emitir rayos que impresionan las placas fotográficas.

Los rayos ultravioletas poseen, cuando actúan durante algún tiempo, diversas acciones *locales* perjudiciales, por ejemplo, sobre los ojos (fenómenos degenerativos, enturbiamiento de la córnea y del cristalino, y si éste, que es impermeable a los rayos ultravioletas, es extraído, fenómenos de degeneración retiniana); pero estas acciones destructivas se manifiestan especialmente en ciertos tejidos patológicos, de donde su empleo terapéutico. El tejido tuberculoso es particularmente sensible a ellas: sus células epitelioides y gigantes presentan primero una imbibición acuosa e hinchazón, luego vacuolizaciones y, finalmente, necrosis; al mismo tiempo se observan fenómenos flogístico-proliferativos en el tejido circundante. La curación de las tuberculosis locales y externas por medio de los rayos ultravioletas se funda en parte en esta labilidad del tejido específico respecto a dichas radiaciones; pero no puede invocarse este mecanismo directo más que para las lesiones superficiales, porque los rayos ultravioletas son absorbidos por los tejidos, especialmente por los vascularizados (hemoglobina). Hay quien atribuye la acción curativa a la pigmentación que se desarrolla: en realidad parece que el pigmento tiene una acción antiflogística y que las partes de piel naturalmente más pigmentadas son también las más resistentes, por ejemplo, a la acción flogógena de los venenos bacterianos (tuberculina, toxina diftérica, etc.) (1).

Parece también que los rayos ultravioletas tienen una acción muy *general;* aumentarían las oxidaciones intraorgánicas y acelerarían el metabolismo en general, según algunos; pero sin la presencia de sensibilizadores (véase más adelante), según los datos de PINCUSSEN, LIEBENSKY, HANSEN (2), las irradiaciones favorecerían principalmente la retención de N y, por lo tanto, retardarían el metabolismo. Para PINCUSSEN mismo, en los animales irradiados aumentaría la eliminación del ácido oxálico, que se formaría como término ulterior de la oxidación del ácido úrico → alantoína. Al mismo tiempo disminuirían ciertos fermentos (lipasas) de la sangre.

(1) Véase: GROERR, *Zeitschr. f. d. ges. exp. Med.*, vol. XXXIV, fasc. 1-2, 1923.
(2) Véase este último, en *Klin. Woch.*, 1922, pág. 1469.

Según ZIEGLER (1), los rayos ultravioletas actuarían especialmente sobre los elementos celulares lábiles (epitelios cutáneos, elementos de la sangre), cuya disgregación fisiológica sería activada y, por lo tanto, excitada su regeneración.

HAMBURGER coloca la luz entre los agentes calciofijadores del organismo, es decir, que las irradiaciones tenderían a reducir la eliminación del Ca y a facilitar la fijación de este metal en los tejidos. He aquí otro elemento que hay que tener presente al apreciar la acción terapéutica de los rayos ultravioletas en la tuberculosis, en la cual se da tanta importancia a la remineralización de los tejidos y especialmente a la calcificación de las lesiones específicas. En esta acción calciofijadora y en otra más compleja (activación de las oxidaciones, influencia sobre los factores vitamínicos) se funda también la cura del raquitismo por los rayos ultravioletas y con el llamado sol artificial de altura, rico en tales radiaciones, recomendada por varios autores, por ejemplo, por HESS, por ULDSCHINZKY y KNESCHKE (2). Parece realmente que la luz obra juntamente con factores alimenticios accesorios, o vitaminas: en la oscuridad las deficiencias vitamínicas aparecen primero que a la luz, como ha observado recientemente ISHIDO (3), mientras que los rayos ultravioletas tienen una influencia compensadora respecto a las avitaminosis. También la formación de anticuerpos puede ser intensificada por las irradiaciones con rayos ultravioletas, con tal de que estén convenientemente dosificadas (4). Finalmente, parece que los rayos ultravioletas y hasta los del espectro visible, incluso aquellos preferentemente térmicos, modifican más o menos la inervación vegetativa, quizá en virtud de una alteración iónico-salina; pero no podemos entretenernos en esta cuestión.

Un asunto muy importante es el de las acciones *fotodinámicas* o de la *fotosensibilización*, sobre el cual existen numerosos trabajos resumidos en las monografías de v. TAPPEINER (5), al cual se deben las afirmaciones fundamentales de PINCUSSEN (6), de VIALE (7), quien acompaña un extenso índice bibliográfico. El fenómeno en cuestión consiste en el hecho de que los substratos orgánicos, células u organismos, que no son alterados por la luz, pueden serlo si son puestos en presencia de ciertas substancias que se llaman *fotosensibilizadores.*

Parece que MARCACCI (8) había notado desde el año 1888 que la quinina ejercía, bajo la acción de la luz, cierta influencia en la germinación de las semillas y en el desarrollo de los huevos de anfibios, mientras que esta acción no tenía lugar en la oscuridad. Pero fué RAAB, discípulo de TAPPEINER, el que observó de una manera clara

(1) *Stahlenther.*, vol. XIV, 1922.
(2) *Klin. Woch.*, 1923, n.° 42.
(3) *Id.*, 1923, n.° 8.
(4) KÖNIGSFELD, *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXXVIII, n.° 4 y 6.
(5) *Ergebn, d. Physiol.*, año VIII, 1909.
(6) *Ergebn. d. Physiol.*, año XIX, 1921.
(7) *Archivio di Scienze biol.*, I, pág. 78, 1919-1920; *R. Accademia di Medicina di Torino*, 23 marzo, 1917.
(8) *Arch. ital. de Biol.*, 1888.

este fenómeno en los paramecios en presencia de acridina: la acridina añadida en cierta concentración al agua donde viven los paramecios es bien tolerada en la oscuridad; si se expone a la luz la solución de acridina con paramecios, éstos mueren. Se trata, por lo tanto, de fotosensibilizadores de substancias inactivas en la oscuridad y activas (tóxicas) a la luz, y la acción fotodinámica es la que se manifiesta por la influencia de la luz, en cuanto estas substancias hacen sensibles a la luz los substratos biológicos.

Los fermentos, toxinas, células aisladas (protozoos, bacterias, hematíes, leucocitos o epitelios separados de los organismos superiores) y organismos superiores enteros pueden ser sensibilizados a la luz por efecto de varias substancias. Las substancias fotosensibilizadoras son la fluoresceína y sus derivados halogenados (eritrosina, eosina), las sales de quinina, la acridina, el azul de metileno, el rojo de tolueno y, como regla general, otras *substancias fluorescentes*, es decir, dotadas de la propiedad de emitir radiaciones luminosas propias cuando son expuestas a la luz o a los rayos ultravioletas (los rayos emitidos en la fluorescencia son siempre de onda más larga que los excitadores). Las radiaciones emitidas por el cuerpo fluorescente no actúan a distancia; en efecto, colocando células sensibles (hematíes) en tubos de cristal de urano fuertemente fluorescentes, como ha hecho VIALE, y haciendo irradiar luz, no se obtiene la acción fotodinámica que se revelaría por una hemolisis. Es necesario que la substancia fluorescente esté en contacto con los substratos biológicos y los compenetre íntimamente; en este caso es capaz de producir el efecto fotosensibilizador sobre los mismos substratos. El prototipo de la acción fotodinámica es la *hemolisis fotodinámica*, estudiada desde hace muchos años por SACHAROFF y SACHS: se toman hematíes lavados, se suspenden en solución fisiológica en la cual se ha disuelto eosina o eritrosina y se exponen a la luz, evitando la acción térmica por medios apropiados. Con concentraciones convenientes de eosina (no muy fuertes ni demasiado débiles) se obtiene hemolisis por exposición a la luz, mientras que las mismas concentraciones de colorante no dan ninguna alteración en la oscuridad. Es de notar que a dosis más altas la eosina hemoliza por sí sola, hasta en la oscuridad, según los trabajos recientes de JODLBAUER y HAFFNER (1) y de TESTONI (2).

Según las observaciones más antiguas de LEDOUX-LEBARD y confirmadas después, las acciones fotodinámicas necesitan para desarrollarse la presencia de oxígeno libre, de donde la hipótesis, que, sin embargo, tropieza con varias dificultades, de que el agente fotosensibilizador, por ejemplo, la eosina en la hemolisis a la luz por este colorante, actúa como vector del O_2, formando peróxido con el O_2 libre, el cual después se reduciría para ceder el oxígeno a los substratos, se formaría de nuevo, y así sucesivamente. No se explica todavía la importancia indiscutible de la fluorescencia para las acciones fotodinámicas; existe el hecho de que todos los fotosensibilizadores biológicos son fluorescentes, aun cuando no todas las substancias fluorescentes sean fotosensibilizadoras. Las recientes consideraciones energéticas de VIALE encuadran muy bien con muchos hechos observados (1).

(1) *Pflüger's Arch.*, vol. CLXXXIX, 1921.
(2) *Arch. ital. Scienze biol.*, IV, fasc. 1 y 2, 1923.

Varias substancias son capaces de inhibir las acciones fotodinámicas sobre los substratos biológicos; así, el suero inhibe la hemolisis fotodinámica por la eosina. Según SCHMIDT y NORMAN (2), en este caso (como en el de los rayos ultravioletas) tendrían acción inhibidora los cuerpos de núcleo aromático, por ejemplo, las proteínas en cuanto poseen grupos aromáticos, los fenoles, etc.; pero TESTONI (3) no pudo confirmar esta ley. Parece que, generalmente, todas las substancias que añadidas al sistema reducen la fluorescencia del fotosensibilizador, disminuyen la acción fotodinámica.

La acción fotodinámica se manifiesta también sobre los organismos enteros: la inyección de eosina en animales da lugar a efectos tóxicos si los animales son expuestos a la luz: PENNETTI (4) comprobó una leucocitosis por pequeñas dosis de eosina inyectadas a cobayos mantenidos a la luz. AZZI (5) ha estudiado las modificaciones leucocitarias de los cobayos quininizados e irradiados. Las ratas tratadas con acridina o eritrosina presentan, colocadas a la luz, fenómenos necróticos cutáneos (JOLDBAUER y TAPPEINER). Los renacuajos mueren a la luz en soluciones de eosina, en las cuales viven bien en la oscuridad (VIALE). Con fines terapéuticos se han espolvoreado con eosina los tumores y ulceraciones, exponiéndolos después a la luz, así como TORRACA (6) ha estudiado la influencia de la luz y de las substancias de acción fotodinámica sobre los procesos de cicatrización de las heridas, que sería acelerado también por la luz solar en la alta montaña (7). La substancia que en vivo produce una de las más notables acciones fotodinámicas es la hematoporfirina: un ratón al que se inyecta hematoporfirina vive perfectamente en la oscuridad; pero puesto a la luz presenta inmediatamente agitación (por la enorme irritación cutánea), fotofobia, edemas, después disnea, abatimiento y muere en pocas horas. Dosificando convenientemente la porfirina y la exposición a la luz se obtienen cuadros crónicos, con necrosis de la nariz, orejas, patas, caída del pelo, etc. También ciertos medicamentos (sulfonal, etc.) son fotosensibilizadores. Parece que muchos pigmentos (esto es cierto para la clorofila de los vegetales) actúan también como sensibilizadores, absorbiendo los rayos luminosos de onda larga y transformando su energía en otras formas útiles para el organismo; de este modo son

(1) *Arch. ital. Scienze biol.*, vol. I, 1919.
(2) *Journ. of infect. diseases.*, vol. XXVII, n.° 1,1920.
(3) Obra citada.
(4) *Arch. Scienze biol.*, vol. IV, n.° 3 y 4, 1923.
(5) *Arch. Scienze med.* vol. XLV, 1922.
(6) *Policlinico*, seg. Chir., II, 1922.
(7) *Società italiana di Chirurgia*, XXVII, Congreso, 1920.

utilizados aquellos rayos, como los de onda larga, que sólo tendrían efectos térmicos y no químicos.

Existen enfermedades llamadas de *fotosensibilización*. Se dividen en enfermedades por fotosensibilización exógena, si el fotosensibilizador es de origen externo, y enfermedades por fotosensibilización endógena, si el fotosensibilizador se origina en el organismo. Entre las primeras tenemos la *enfermedad del maíz* o *fagopirismo*, que se manifiesta en los bóvidos, ganado de cerda y ovejas de pelaje blanco, cuando se alimentan de aquella gramínea y están al aire libre: se presentan síntomas cutáneos y generales, que recuerdan los ya citados para la hematoporfirina. Existirían otras enfermedades de los animales por fotosensibilizadores introducidos por vía alimenticia, así como ciertos trastornos en las ovejas alimentadas (en la Italia meridional e insular) con *Hypericum crispum*, hipericón o hierba de S. Juan. Algunos (1) han considerado la pelagra como debida a fotosensibilizadores del maíz (teoría fotodinámica de la pelagra, actualmente abandonada).

Serían enfermedades por fotosensibilizadores endógenos, formados en los procesos anormales del metabolismo, aquellas que van acompañadas de hematoporfirinemia o hematoporfirinuria, como la *hydroa aestivalis*, la *prurigine estiva*, etc. Pero la relación entre estas afecciones cutáneas y la hematoporfirinuria no son tan íntimas, y quizá en el organismo en condiciones metabólicas anormales existen porfirinas diversas, no todas igualmente fotosensibilizantes (2).

También es oportuno citar el curioso fenómeno observado por Loeb en varios pequeños organismos acuáticos (dafnias), en los cuales hay modificaciones del fototropismo por influencias químicas (ácidos, alcohol, CO_2) añadidas al agua.

Para explicar la acción benéfica de la luz sobre los organismos o sobre la curación de procesos morbosos, tenemos que tomar en consideración varios factores: la sensibilidad a la acción destructura de los rayos químicos que presentan ciertos tejidos patológicos (tubérculo); por otra parte, la acción modificadora del metabolismo general, de la inervación vasomotora y de la circulación, debida al efecto luminoso y, quizá aun con mayor intensidad, al térmico; el efecto coadyuvante de los rayos de onda corta respecto a los factores vitamínicos; la acción excitadora que los mismos fotosensibilizadores ejercen a veces conjuntamente con la luz, a dosis y con exposiciones moderadas, sobre ciertas funciones, como la cardíaca (Viale), acción que con dosis altas se vuelve perjudicial; las propiedades bactericidas de la luz, etc.

---

(1) Aschoff, Horbaczewski, Raubitschek: véase este último en *Ergebn. d. allg. Pathol.*, 1915; y véase también la pág. 306 de este libro.

(2) Véase Hausmann, en *Bioch. e Ter. sperim.*, año VIII, fasc. 3.°, 1921.

SECCIÓN III

EL METABOLISMO MATERIAL Y ENERGÉTICO

CAPÍTULO I

Leyes de la conservación de la materia y de la energía en el organismo

La materia viviente, constituída por grandes y complejos edificios moleculares, se encuentra sometida a los fenómenos continuos de oxidación y escisión por una parte, y a los de reducción y síntesis por otra, como ya hemos dicho. En los organismos se verifica continuamente una desintegración de las grandes moléculas de proteínas, grasas e hidratos de carbono, en moléculas más sencillas, hasta convertirlas en los productos terminales, que son el CO_2, el agua, el amoníaco y los ácidos sulfúrico y fosfórico: es un verdadero proceso de *mineralización* de las substancias orgánicas complejas, que se verifica por la intervención del oxígeno, por lo tanto en virtud de aquellos procesos de oxidación intraorgánica de los que hemos intentado dar una idea.

Podría representarse todo el proceso químico de la vida por una ecuación, que expresase solamente los productos iniciales y terminales, del tipo de la siguiente:

Cuerpos orgánicos complejos (proteínas, grasas e hidratos de carbono) $+ \quad O_2 = H_2O + CO_2 + NH_3 + H_2SO_4 + H_3PO_4 + ...$

En la Naturaleza también se debe desarrollar de un modo continuo la ecuación en sentido opuesto, para que la vida sea posible en la superficie de la tierra, y ya hemos dicho en otro lugar que estas dos grandes direcciones de la transformación química de la materia, la de desintegración y la sintética, se realizan en los dos reinos de seres vivientes, aunque con apariencia e intensidad distintas.

Lor organismos, por lo tanto, llegan finalmente al reino mineral y devuelven a éste la materia que ha circulado a través de ellos: no crean materia nueva, ni la dextruyen; son simples sistemas transformadores. A ellos se aplica, por lo tanto, el principio de la conservación de la materia. Pero hasta la ley de la conservación

de la energía (primera ley de la Termodinámica) encuentra aplicación íntegra en los seres vivientes. Como en todas las reacciones químicas, también los organismos al lado de fenómenos puramente materiales, desarrollan transformaciones energéticas, como enseña la Termoquímica. En el cuerpo se verifican reacciones *exotérmicas*, es decir, de efecto térmico positivo, que son las que implican una degradación de la materia orgánica, y reacciones *endotérmicas*, o sea que se desarrollan con absorción de calor, que son las sintéticas y reintegrativas; existen también procesos de curso *isotérmico*, como algunos en que intervienen los coloides. En su conjunto, la gran reacción que hemos expuesto antes, la ecuación con los términos de partida y de llegada, tiene un efecto térmico positivo. La energía química de las substancias alimenticias y del oxígeno, creada a su vez en las plantas verdes por transformación de la energía radiante del sol, es empleada en el organismo en cumplir trabajos de distinta clase: como trabajo muscular (hasta en el organismo en reposo trabajan las musculaturas lisas viscerales y el corazón, los músculos voluntarios tienen un tono, etcétera), trabajo osmótico, trabajo de superficie, fenómenos de imbibición, modificaciones iónicas y, por lo tanto, creación de potencial eléctrico, en fin, para producir todo el complejo «trabajo de los órganos», como dice OPPENHEIMER (1), trabajo que en gran parte consiste en la creación de *desequilibrios químicos* o *químico-físicos*, de estados de tensión, de potenciales energéticos, como poner en tensión un muelle desde un punto de vista puramente mecánico. Como veremos en seguida, el mismo trabajo muscular se origina por el empleo de una *energía química*, esto es, de una energía potencial que deriva de la naturaleza y posición de los átomos (incluída en el sistema: glucosa + O_2, tanto más cuanto que el músculo puede trabajar hasta anaerobiamente con la molécula de la glucosa misma), en la creación de un desequilibrio coloidal, que es destruído luego con desarrollo de trabajo mecánico. Todos estos procesos van más o menos acompañados de aquella forma más degradada de energía, que es el calor: el trabajo muscular de los órganos conduce a atracciones de partes sólidas entre sí o de flúidos y sólidos, con desarrollo de calor; muchos de los procesos coloidales van asociados con transformaciones parciales, irreversibles, de otras energías en calor, y tomando también como ejemplo el trabajo muscular externo, toda la energía del mismo es disipada en forma de calor, a no ser que vaya seguida de un trabajo mecánico o no se produzca verdaderamente una *energía de posición*, como cuando se levanta un peso, se sube una escalera o un monte, etc. Por lo tanto, en un organismo que no produzca un trabajo mecánico en este sentido, que esté inmóvil o bien que se mueva sobre una superficie horizontal, en cuyo caso hasta el trabajo exterior que pueda desarrollarse se convertirá enteramente en calor, la totalidad de éste será el último término de transformación de toda la energía química

(1) *Der Mensch als Kraftmaschine*, Leipzig, Thieme, 1921.

introducida con los alimentos. Si se ha realizado además un trabajo en sentido físico (elevación de un peso), entonces la energía química introducida tendrá como último término de transformación el calor disipado, *más* la energía de posición producida. Si se trata de un organismo luminoso o productor de otras formas especiales de energía exterior (peces eléctricos), se comprende que deberemos incluir la luz o las otras formas de energía en la suma de las manifestaciones energéticas.

El calor, por lo tanto, es producido por los organismos como una disipación energética inevitable que acompaña a todas las otras transformaciones de energía. Pueden emplearlo, como lo hacen los vertebrados superiores, en mantener el cuerpo a cierta temperatura constante, es decir, para las exigencias de la *isotermia*, tan útil para la regulación metabólica, y para dotar a las células de un medio interno lo más invariable posible, el cual les ahorra un notable trabajo de adaptación y de defensa y les permite diferenciar mejor sus actividades funcionales específicas. Pero, de todos modos, aunque el calor se *emplee* en esto, no es producido *para* esto, es producido de la misma manera que se origina por el rozamiento de las piezas de una máquina, no obstante representar para ésta una reducción del efecto útil. Tampoco es a través de la transformación en calor que la energía química de las substancias corpóreas es convertida en energía mecánica (contracción muscular), sino que la energía química es utilizada directamente para poner en tensión los sistemas coloidales que se descargan luego, para la creación de desequilibrios que después se compensan, que más tarde son reproducidos de nuevo por nueva energía química y así sucesivamente. El organismo no es una máquina térmica, es decir, una máquina que por medio del calor crea otras formas de energía; la comparación corriente, que deriva de los tiempos de LAVOISIER, entre los alimentos y el combustible, es poco exacta, porque el organismo no emplea para sus manifestaciones energéticas el solo calor de combustión de los alimentos, sino que utiliza directamente la energía química contenida en ellos y en el O_2, energía química que nosotros, por comodidad, podemos evaluar calorimétricamente, pero que en el cuerpo realiza otras transformaciones, se distribuye entre soluciones de distinta concentración, en sistemas coloidales complejos, se transforma ampliamente en energía de superficie y mantiene extensos desarrollos en este sentido, creando a su vez fuerzas de tensión y de atracción (adsorción), además establece potenciales de membrana y, finalmente, refluye de un modo irreversible al mar muerto de la energía menos noble, la más degradada, la energía térmica, y como tal toda ella abandona al organismo si no hay desarrollo de algún trabajo exterior o de luz (1).

(1) Algunos, como HILL (*Erg. d. Physiol.* de ASHER-SPIRO, vol. XV, 1916), han afirmado recientemente, que la segunda ley de la termodinámica no es válida para el organismo, como tampoco es cierta para los movimientos brownianos: sobre este punto de gran importancia teórica remitimos a la citada monografía de OPPENHEIMER.

Los alimentos son, como hemos visto, los únicos proveedores de energía (potencial o aprisionada) para los animales. El animal es un sistema complejo, que sabe aprovechar la energía potencial contenida en los alimentos, transformándola en actual (calor y accidentalmente trabajo mecánico externo) o, como se dice, *liberándola*. Es cierto que en los animales existen transformaciones de energía en sentido opuesto: la energía puede ser fijada, cuando se forman compuestos complejos a partir de cuerpos sencillos en los procesos sintéticos, y muchas veces la energía necesaria para esto es obtenida por reacciones paralelas que se desarrollan con liberación de energía (reacciones acopladas).

Podemos establecer, por lo tanto, para el organismo un perfecto balance material y energético y comprobar experimentalmente las dos leyes de la conservación de la materia y de la energía. Lo que entra debe ser igual a lo que sale más lo que se ha fijado accidentalmente en el organismo, o bien igual a lo que sale menos lo que el organismo pierde de sus propios tejidos; y la energía suministrada, medida en calorías (Sección I), debe corresponder a la cedida en forma de calor, más el equivalente calorífico del trabajo mecánico externo accidentalmente producido.

Se deben a LAVOISIER, a LAPLACE, a REGNAULT y a DULONG las observaciones fundamentales y los aparatos primitivos para la comprobación de estos principios básicos que actualmente parecen casi lugares comunes, pero que a finales del siglo XVIII y a primeros del XIX tuvieron que ser discutidos y demostrados laboriosamente. RUBNER y su escuela emprendieron en tiempos mucho más recientes, en el último decenio del siglo XIX, los trabajos fundamentales que comprobaban irrefutablemente estas leyes del recambio material y energético. Hemos de ser muy concisos en estas materias y remitimos para más detalles a los tratados de Fisiología. Solamente procuraremos hacer resaltar lo que hasta hoy es más directamente aplicable a la clínica humana.

Hablaremos primero del recambio material intermedio, o sea, de todo el complejo de reacciones (no todas conocidas) que se intercalan de uno a otro de los dos miembros extremos de la ecuación antes citada, exponiendo algunas nociones acerca de la degradación de los distintos constituyentes de las células: las proteínas, las grasas y los hidratos de carbono; luego trataremos brevemente de las transformaciones de la energía.

No es verosímil que el organismo se exceptúe de dicha ley, que es una comprobación experimental más que una necesidad matemática. El organismo probablemente degrada la energía y la cede en forma de calor. No es verosímil que en contra de dicha ley, produzca trabajo a partir del calor a una temperatura elevada, que sería incompatible con la vida; es más probable que todo el trabajo proceda de la energía química, a través de otras formas de energía no calórica.

CAPÍTULO II

El recambio material: entrada y salida globales

Una determinación completa y exacta del balance de las entradas y de las salidas de materiales necesitaría el análisis *elemental* de los alimentos y bebidas, de los gases respiratorios, de las heces y orina y de otras excreciones y secreciones. Varias investigaciones de esta clase, iniciadas ya por PETTENKOFER y VOIT, han sido realizadas especialmente por los americanos BENEDICT, ATWATER y sus discípulos en los grandes calorímetros respiratorios, generalmente junto con la determinación de las entradas y salidas energéticas.

En el cuadro de la página siguiente damos un ejemplo de un balance completo, según ATWATER: están indicadas las entradas y salidas para cada elemento y para las cenizas (elementos minerales), y están calculadas las cantidades de proteínas, de grasas y de hidratos de carbono (como el glucógeno) en función de la composición centesimal media de estos componentes inmediatos de la alimentación.

Pero más frecuentemente se efectúan simplificaciones notables: se hace el análisis elemental sólo refiriéndose al N (o todo lo más también al C), se calculan las cantidades de proteínas, grasas, etc., ingeridas, fundándose en las tablas de composición de los alimentos (Sección I) y se emplean otras aproximaciones de exactitud suficiente, como luego indicaremos.

En realidad, el N es eliminado solamente por las heces (cerca de 1 gr. de N al día, procede del intestino y precisamente de sus secreciones, no del residuo de los alimentos nitrogenados) y por la orina (15-16 gramos al día, con una dieta mixta, con unos 90-100 gr. de proteínas); pequeñísimas son las pérdidas de urea y otras substancias nitrogenadas por la piel, aun cuando éstas pueden hacerse más considerables en condiciones patológicas (en los urémicos con *azoemia*).

El C y el H son eliminados preferentemente por la superficie pulmonar y por la piel en forma de CO_2 y H_2O; como la transpiración insensible y la sudoración pueden ser reducidas al mínimo y despreciarse, o si se quiere se puede recoger la cantidad de agua así emitida por medios apropiados (con vestidos de lana blanca bien lavados, pesados antes y después de la experiencia) y la *respiración cutánea* es inapreciable en los mamíferos, queda siempre como fundamental la determinación de los gases respiratorios (y accidentalmente del agua

Ganancias y pérdidas de los materiales corpóreos en el primer día de un experimento sobre el metabolismo

	Peso total *a*	Nitrógeno *b*	Carbono *c*	Hidrógeno *d*	Oxígeno *e*	Cenizas *f*
	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.
ENTRADAS						
Oxígeno del aire	1545,24	.....	.....	.....	1545,24	.....
Agua de las bebidas	1950,—	.....	.....	.....	1731,80	.....
Agua de los alimentos	2935,50	.....	.....	218,20	2607,02	.....
Sólidos en ambos	914,50	18,45	507,94	328,48	290,13	21,70
Total.	7345,24	18,45	507,94	622,96	6174,19	21,70
PÉRDIDAS						
Agua de las heces	191,30	.....	.....	21,49	168,89	.....
Sólidos de las heces	48,40	1,80	26,80	4,07	6,63	9,10
Agua de la orina	1425,80	.....	.....	159,55	1266,25	.....
Sólidos de la orina	69,80	14,31	11,57	2,92	26,90	14,10
Agua de respiración y transpiración	3702,27	0,65	.....	414,21	3287,41	.....
CO_2 de la respiración	1775,61	.....	484,25	.....	1291,36	.....
Total.	7213,18	16,76	522,62	602,16	6047,44	23,20
Ganancias (+) y pérdidas (—)	+132,06	+1,69	—14,68	+20,80	+126,75	—1,50
+ cenizas de las proteínas ganadas	0,16					
Ganancias y pérdidas de los materiales corpóreos:						
Proteínas	+ 10,14	+1,69	+5,35	+0,71	+2,23	+0,16
Grasas	+ 43,82	.....	+33,35	+5,17	+5,30	
Glucógeno	—120,17	.....	—53,36	—7,45	—59,36	
Agua	+199,93	.....	.....	+22,37	+177,56	
Cenizas	— 1,50	.....	.....	.....	.....	—1,50
	+132,22	+1,69	—14,66	+20,80	+125,73	— 1,34

expirada). El C se pierde por la orina y por las heces: por la orina se pierde poco en comparación del que se elimina en forma de CO_2 por el pulmón, y frecuentemente se puede dejar de determinarlo; puede tenerse presente también que la relación $\frac{N}{C}$ en la orina es bastante constante, como $\frac{1}{0,72}$ por término medio (dieta mixta) y por este medio calcular el C por el N; para las heces también se puede hacer un cálculo semejante, teniendo en cuenta que los hidratos de carbono que contiene son escasos (residuos de celulosa), que normalmente las grasas no pasan de pocos gramos (0,4-1,5 gr. en el ayuno) y que, para una dieta mixta, la relación $\frac{N}{C}$ es de $\frac{1}{9,2}$ aproximadamente.

En los herbívoros con abundante fermentación metánica de la celulosa en el intestino, sería necesario tener en cuenta el C y el H perdidos en forma de gases intestinales (metano, hidrógeno, etc.).

En la práctica médica están poco extendidos estos balances, hasta los relativamente simplificados, por razones evidentes: la inexactitud de las aproximaciones dichas crecería por otra parte notablemente; así, por ejemplo, las relaciones *normales* citadas entre C y N en las heces y en la orina pierden todo valor cuando se examinan las heces de un paciente de afección pancreática con esteatorrea, o de un diabético con glucosuria. El balance más importante y más fácil continúa siendo el del N. Se observa siempre que, si durante cierto tiempo se da a un animal una cantidad de albuminoides suficiente o más que suficiente, por lo tanto igual *por lo menos* a la cantidad proteica mínima, ya definida en la Sección I, se establece una igualdad casi perfecta entre las entradas y las salidas de N, aparece lo que se llama el *equilibrio nitrogenado*. De todos modos, para aclarar las ideas, citamos el siguiente ejemplo de investigación simplificada de los recambios materiales (1). En este cuadro están indicadas las entradas y salidas *medias* diarias (experimento de 4 días) para un hombre de 32 años y 64 kg. de peso, en estado de reposo:

	Cantidad total	Agua	Proteínas	Grasas	Hidratos de carbono	N	C	H orgánico
Alimento introducido	2634,0	2152,5	94,4	82,5	289,8	15,1	239,0	36,2
Excreciones:								
Heces	54,7	40,6	5,4	3,7	3,2	0,9	7,4	1,0
Orina	1449,5	1403,1	—	—	—	16,2	12,2	3,5
Piel y pulmones	—	962,8	—	—	—	—	207,3	—
Total	—	2406,5	—	—	—	17,1	226,9	4,5
Balance	—	—254	—	—	—	—2	+12,1	+31,7

(1) De ATWATER, según TIGERSTEDT, *Trattato di Fisiologia*, trad. por QUAGLIARIELLO, Nápoles, 1923.

El organismo en cuestión ha introducido cada día 94,4 gr. de proteínas y eliminado 5,4 gr. por las heces, o sea que ha recibido 94,4 gr. — 5,4 gr. = 89 gr. de proteínas; ha ingerido, formando parte de las proteínas, 15,1 gr. de N, perdiendo 0,9 gr. por las heces y 16,2 gr. por la orina, es decir, 17,1 gr. de N en total. Este organismo presentaba, pues, un pequeño *déficit* (— 2 gr.) de N, que corresponde a un consumo de $2 \times 6{,}26 = 12{,}5$ gr. de proteínas de sus propios tejidos. Por lo tanto, metaboliza no solamente los 89 gr. de proteínas de la alimentación, sino además 12,5 gr. de origen propio, o sea, en total 89 + 12,5 = 101,5 gr. de proteínas. Conociendo la relación que existe entre la cantidad de C y la de N de las proteínas $\left(\frac{3{,}28}{1}\right)$, se podría calcular qué cantidad del C metabolizado corresponde a las proteínas, y qué cantidad (por el aire expirado) a las substancias no nitrogenadas; igualmente se podría profundizar el examen y averiguar qué cantidades de grasas y de hidratos de carbono han sido metabolizadas. Daremos solamente el resultado del cálculo: el organismo, que ha perdido proteínas propias, ha ganado 24,2 gr. de grasa *por día*.

Es principalmente por medio de la determinación del cociente respiratorio que, por comodidad de exposición, hemos descrito en la Sección I, como puede averiguarse si el organismo quema más grasas que hidratos de carbono o viceversa: de esta manera el examen de las entradas y salidas da también una idea de los procesos intermedios del metabolismo, como veremos también más adelante.

Con la máscara respiratoria de ZUNTZ-GEPPERT (1) provista de válvulas de manera que separa el aire expirado del inspirado, es posible medir de una manera sencilla y cómoda los cambios respiratorios pulmonares y averiguar los volúmenes (en centímetros cúbicos con corrección de la presión y temperatura) de CO_2 expirado y de O_2 recibido, calculando luego la relación o cociente respiratorio (C. R.). Según ZUNTZ (2) se encuentran los valores siguientes para el consumo de O_2 y la formación de CO_2 a partir de un gramo de cada una de las substancias alimenticias:

1 gr. de almidón necesita 828,8 cc. de O_2 y produce 828,8 cc. de CO_2; por lo tanto, C. R. = 1.

1 gr. de grasa necesita 2019,2 cc. de O_2 y produce 1427,3 cc. de CO_2; por lo tanto, C. R. = 0,707.

1 gr. de proteína necesita 966,1 cc. de O_2 y produce 781,7 cc. de CO_2; por lo tanto, C. R. = 0,809.

Los valores de los C. R. coinciden tanto si se calculan teóricamente por la composición centesimal de cada una de las substancias, como si se deducen del experimento fisiológico. Existen actualmente, como veremos a propósito del metabolismo energético, aparatos más perfeccionados, utilizables en clínica con mayor comodidad que el aparato original de ZUNTZ y GEPPERT, que permiten seguir el metabolismo orgánico con suficiente exactitud.

(1-2) *Pflüger's Arch*, vol. XLII y LXVIII.

Las simples variaciones de peso del cuerpo, a no ser que sean muy considerables, tienen poco valor para determinar las ganancias o pérdidas de substancia orgánica: en efecto, el peso está muy influenciado por el contenido en agua del cuerpo y es muy variable, especialmente en los niños, la cantidad de agua *retenida en los tejidos*, aun exceptuando los períodos extremos patológicos de oligohemia seca y de deshidratación de los tejidos por una parte, y plétora hidrémica y edema por otra. La misma alimentación (pág. 497) hace variar la capacidad de los tejidos para retener el agua.

CAPÍTULO III

El metabolismo intermediario de los hidratos de carbono

a) Formación de los hidratos de carbono.

Los hidratos de carbono son constituyentes probablemente indispensables de las células y de los líquidos orgánicos. Generalmente se encuentran en las primeras en forma de materiales de reserva en estado de almidón (vegetales) o glucógeno (animales), o sea en estado de polisacáridos, y en los líquidos orgánicos en forma de azúcares, generalmente de glucosa. Pero es verosímil que las mismas células utilicen, y por lo tanto que contengan, azúcar como fuente de energía, de la cual no pueden prescindir de ninguna manera. Los polisacáridos como el glucógeno representan la forma estable, de reserva, de los hidratos de carbono, de los cuales la célula poco a poco extrae las cantidades necesarias de azúcar para las actividades energéticas. En el medio en que vive la célula debe encontrarse a disposición de ésta el hidrato de carbono soluble y fácilmente combustible, pero como se trata de substancias osmóticamente activas, cuya concentración no puede sobrepasar un cierto límite y, por otra parte, su importancia es tal, que el organismo debe disponer siempre y en cualquier momento de ellas, el azúcar derivado abundantemente de la alimentación, si no es utilizado inmediatamente, es almacenado en una forma menos soluble (coloidal) y químicamente más compleja, en forma de polisacárido (glucógeno) en el hígado, en los músculos, en los pulmones, en los riñones, en la placenta, en los leucocitos y en ciertos tejidos patológicos como muchos tumores, especialmente los malignos. En los vegetales, además de los polisacáridos que representan una reserva movilizable, como los almidones (que corresponden al glucógeno de los animales), tenemos unos polisacáridos aun más complejos y completamente insolubles, empleados en formar envolturas celulares y tramas sólidas (hemicelulosa y celulosa).

Los hidratos de carbono se sintetizan en el reino vegetal. La energía radiante del sol (luz) es la que en los órganos con clorofila de las plantas verdes separa el carbono y el oxígeno del anhídrido carbónico del aire, con liberación del O_2 y empleo del C para formar los hidratos de carbono con los elementos del agua.

Parece que la clorofila actúa de catalizador, uniéndose lábilmente con el CO_2 (Willstaetter); pero la energía necesaria para vencer la afinidad de los átomos de C para los de O deriva del sol; hay una transformación de la energía radiante (luminosa) en energía química, que se encuentra almacenada en los hidratos de carbono. Parece que el primer producto de combinación del carbono con los elementos del agua es el *aldehido fórmico*, CH_2O, el más elemental — en cierto modo — de los hidratos de carbono, por condensación del cual derivarían todos los hidratos de carbono de las plantas y, por lo tanto, de los animales.

La planta luego, con los hidratos de carbono fabricados por medio de esta *fotosíntesis* y con N derivado de los nitratos del suelo, puede producir las proteínas y los alcaloides, y es probable que los aminoazúcares y aminoaldehidos sean etapas intermedias de la construcción de los aminoácidos (y por lo tanto de las proteínas) a partir de los azúcares. Por otra parte, por la tendencia que ya tienen los azúcares a cerrar sus anillos (Parte I) se comprende sin dificultad la formación de los terpenos, de esterinas y de varios alcaloides y aminoácidos de cadena cerrada; quizá los azúcares cíclicos son formas transitorias de estas síntesis complicadas.

Todos los hidratos de carbono, de origen vegetal o animal, llegados al tubo digestivo de los animales, son descompuestos en tres o cuatro hexosas fundamentales, fácilmente absorbibles: d-glucosa, d-fructosa (véase levulosa), d-galactosa y quizá d-manosa. Todos ellos son productores de glucógeno hepático, y éste incluso puede aparecer en el organismo a partir de la glicerina, del ácido láctico, etc. Parece que las cuatro hexosas pueden convertirse fácilmente unas en otras en el organismo, como ya sabemos (pág. 52) que sucede *in vitro*. No se sabe con seguridad si, antes de ser depositadas en forma de glucógeno en el hígado, deben transformarse necesariamente en glucosa; incluso un trabajo reciente de Hornemann (1) acerca de la capacidad de la levulosa para depositarse en forma de glucógeno en comparación con la de la glucosa, es poco concluyente. Sin embargo, está perfectamente demostrado que la hidrólisis del glucógeno produce siempre y únicamente glucosa, que es, por lo tanto, el verdadero azúcar fisiológico, normal en la sangre, y presente en ella quizá en la llamada variedad γ.

El hígado humano contiene normalmente 2-4 % de glucógeno (Lambling), el de perro y el de conejo contienen de 3 a 10 %. Dicho órgano es el que actúa principalmente como regulador de la cantidad de glucosa en la sangre, formando como una barrera contra la entrada súbita y abundante de azúcar procedente del intestino, pues entonces fija el exceso en forma de glucógeno, y lo vuelve a ceder a la sangre en estado de glucosa a medida que los tejidos reclaman este precioso material dinamógeno. El glucógeno, según habíamos indicado ya, se deposita también en otros tejidos, en especial en los músculos (se calcula que el organismo de un perro puede contener *en conjunto* cerca

(1) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXXVII, fasc. 1-2, 1923.

de 40 gr. de glucógeno por kilogramo de peso corpóreo), pero ésta es una provisión que podríamos llamar local, a la que recurren quizá los músculos cuando necesitan glucosa para sus necesidades inmediatas y continuas; mientras que el glucógeno hepático es la gran reserva general a la que el organismo renuncia con extrema dificultad; sólo cuando el ayuno llega a su período terminal, en la diabetes floridcínica con inanición simultánea y en la diabetes pancreática grave, se observa la desaparición casi completa del glucógeno del hígado (*azooamilia* o falta de almidón animal). Entre las reservas musculares locales merecen especial mención las del aparato específico (fascículo primitivo) del corazón, que se caracteriza precisamente, según Aschoff, porque sus fibrocélulas musculares son muy ricas en glucógeno. Lafranca (1) ha encontrado que el nódulo seno-auricular del cordero es rico en glucógeno, pero que éste disminuye por efecto de una taquicardia (por la cafeína), es decir, por una actividad funcional exaltada.

De todo esto se deduce que en el hígado y en los otros tejidos que contienen glucógeno se realiza continuamente la reacción:

$$\text{glucógeno} \rightleftarrows \text{glucosa},$$

proceso típicamente reversible, que seguramente es catalizado por agentes enzimáticos (amilasas).

Corresponde a C. Bernard el mérito de haber descubierto la formación de glucosa en el hígado: las célebres experiencias sobre esta cuestión están citadas en todos los tratados de Fisiología. No creemos que sea correcto hablar de la glucosa como de una secreción interna del hígado, como hacen Gley y algunos autores franceses: el concepto de secreción interna comprende otro género de procesos biológicos (formación de hormonas o reguladores endógenos), mientras que en este caso se trata sencillamente de una dirección determinada (en sentido de desintegración) de una reacción reversible, gracias a la cual se moviliza una substancia nutritiva, anteriormente depositada en forma estable.

Se ha demostrado la existencia en el hígado de una *amilasa* activa en este sentido; no sabemos si esta enzima, colocada en otras condiciones (en este caso deben influir las leyes de las masas), es capaz de activar la reacción opuesta (en sentido sintético). Es oportuno recordar sin embargo, que según Scaffidi (2), el hígado envenenado por el fósforo no puede sintetizar el glucógeno (efectivamente, en esta grave intoxicación, el glucógeno hepático desaparece y, por el contrario, el hígado se infiltra de grasa), pero continúa siendo capaz de desintegrar el glucógeno en glucosa, de tal modo, que una papilla del órgano intoxicado hidroliza el glucógeno produciendo glucosa, igual que lo hace una papilla de órgano sano; esta importante comprobación haría pensar en aptitudes distintas y más complejas que las de desintegración,

(1) *Arch. intern. de physiol.*, vol. XVII, 1922.
(2) *Gazzetta intern. di Medicina*, 1914, n.° 49.

que quizá necesitan una capacidad funcional elevada y, por lo tanto, una integridad mayor del órgano.

Pero si los hidratos de carbono de los alimentos y la cantidad de glucógeno que puede provenir de su almacenamiento en el hígado son una de las fuentes del azúcar de la sangre, pueden existir otras, y hasta en parte son actualmente conocidas; así un segundo e importante depósito de azúcar está formado por las proteínas tanto las alimenticias como las ya asimiladas y organizadas como proteínas corpóreas. Hace tiempo fué negada por Pflüger la posibilidad de la transformación de las proteínas en hidratos de carbono, pero en 1910 este mismo investigador, junto con Junkersdorf (1), aportó una prueba indiscutible: sometiendo un perro a un ayuno de varios días y suministrándole floridcina (que produce una diabetes renal, pues aumenta la permeabilidad del riñón para la glucosa y permite una considerable eliminación de este cuerpo) se puede privar al animal de casi todo el glucógeno hepático (2), de tal manera, que en el hígado sólo se encuentra un 0,1 %; sin embargo, si antes de sacrificar al animal, se le nutre abundantemente con proteínas (bacalao), a pesar de la depauperación precedente (que se puede comprobar matando otro perro que sirva de testigo y que no se haya alimentado), se encuentra en el hígado un ligero acúmulo de glucógeno, hasta un 10 %, rápidamente formado.

También en la diabetes pancreática es fácil demostrar la formación de glucosa a partir de las proteínas; un perro al que se ha extirpado el páncreas y dejado en ayuno durante mucho tiempo, elimina siempre abundantemente glucosa por la orina, hasta cuando debería estar extraordinariamente empobrecido en reservas de hidratos de carbono; si durante un cierto tiempo se le administra caseína, presenta en este período un notable aumento de la eliminación de azúcar; éste no puede proceder más que de las proteínas corpóreas o de la misma caseína administrada, porque su cantidad supera a la que se podría formar con todo el glucógeno existente inicialmente en el cuerpo del perro (el máximo es de 40 gr. por kilogramo de peso corpóreo) y además porque se observa precisamente que la eliminación aumenta en relación con la cantidad de proteína suministrada (3).

(1) *Pflüger's Arch.*, vol. CXXXI, pág. 210.
(2) Puede privarse a un animal del glucógeno hepático, por varios medios, además del de la glucosuria floridcínica (un gramo al día de floridcina, disuelta en aceite, inyectada al perro por vía subcutánea), combinada con el ayuno. Uno de ellos es el envenenamiento por la estricnina, ya que la exagerada actividad muscular (convulsiones) consume mucho glucógeno; según Fischler (en *Lehrb. d. Path. Physiol.*, de Lüdke-Schleyer, pág. 37 y en la monografía citada en las páginas siguientes) se logra de una manera más perfecta simultaneando la fístula de Eck con la administración de floridcina, tanto que aparecería el cuadro llamado por Fischler de *intoxicación glucopriva*, debida a la depauperación total del organismo en hidratos de carbono (véase investigaciones recientes sobre la insulina: apartado *c)*. En los animales privados de las glándulas suprarrenales hay también desaparición del glucógeno del hígado e hipoglucemia (datos recientes en el trabajo de Bornstein y sus colaboradores en *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXXVII, fasc. 1-2, 1923).
(3) Lüthje, *Deutsch. Arch. f. klin. Med.*, vol. LXXXIX; *Pflüger's Arch.*, volumen CVI.

Se llama *relación gluconitrógenoúrica (glucoazoúrica)* el valor $\frac{D}{N}$, o sea la relación ponderal entre la glucosa eliminada por la orina en las formas glucosúricas citadas (y en la diabetes humana) y la cantidad de N urinario. Esta relación tiene una constancia discreta en el animal privado de páncreas y por lo tanto glucosúrico: así, cuando crece el N urinario (revelando un aumento en las proteínas metabolizadas) crece también la glucosa de la orina, que a su vez está en relación bastante constante con la de la sangre. Esto demuestra que en el metabolismo proteico pueden formarse hidratos de carbono, sea en forma de glucosa circulante o, secundariamente, de glucógeno (experiencia de PFLÜGER y JUNKERSDORF). El perro pancreotomizado o convertido en glucosúrico por medio de la floridcina y el hombre diabético, son los que han servido de sujetos experimentales para profundizar el mecanismo de formación de la glucosa derivada de las proteínas, y precisamente se ha intentado (sobre todo por LUSK y RINGER) averiguar qué aminoácidos de la molécula proteica son los glucogeneradores y cuáles no; así se ha visto que son *glucogenéticos*, o sea capaces de proporcionar glucosa al organismo previa desaminación de los mismos, los siguientes aminoácidos: glicocola, alanina, serina, cistina, ácidos aspártico y glutámico, arginina y prolina; mientras que no son glucogenéticos la leucina, la lisina, la valina, la fenilalanina, la tirosina, el triptófano y la histidina. LUSK (1), DAKIN (2) y otros posteriormente, han realizado una serie exacta de determinaciones, que sería prolijo transcribir, fijando con cuantos átomos de carbono puede tomar parte cada uno de los aminoácidos productores de glucosa, en la formación de la cadena de 6 átomos que constituye dicho azúcar: así, la cistina produce glucosa con sus 6 átomos de C, y el ácido aspártico contribuye con 3 de los 4 átomos de C que posee.

He aquí como ejemplo un experimento de RINGER y LUSK (3): dos perros *a* y *b*, convertidos en glucosúricos por la floridcina y sometidos a ayuno, reciben los aminoácidos indicados y eliminan el *exceso* de glucosa que se indica en el cuadro.

		Glicocola	Alanina	Acido aspártico	Acido glutámico
N. ingerido (de los aminoácidos)	*a*.....	3,77	3,12	2,14	1,95
	b.....	3,77	3,12	2,14	1,95
Dextrosa eliminada en exceso	*a*.....	13,97	18,76	11,32	13,09
	b.....	15,71	18,78	12,46	13,46

(1) Véase bibliografía en un artículo suyo sobre la glucosuria floridcínica en *Ergebn. d. Physiol.*, de ASHER-SPIRO, vol. XII, 1912.
(2) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XIV, pág. 321 ; vol. XVII, pág. 451.
(3) *Journ. of biol. Chem.*, vol. VII, pág. 20, apéndice.

Se han empleado, pues, todos los átomos de C de los dos primeros aminoácidos: en los otros dos se han empleado 3 de los 4 átomos y 4 de los 5 que respectivamente poseen.

Queremos hacer notar que la alanina produce probablemente glucosa, desaminándose primero por oxidación o hidrólisis y dando en un caso ácido pirúvico, y en el otro, ácido láctico:

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CH\cdot NH_2 \\ | \\ COOH \end{array} + O = \begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CO \\ | \\ COOH \end{array} + NH_3$$

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CH\cdot NH_2 \\ | \\ COOH \end{array} + H_2O = \begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CH\cdot OH \\ | \\ COOH \end{array} + NH_3$$

Tanto el ácido láctico como el pirúvico se transforman fácilmente en el organismo en glucosa, y probablemente el ácido láctico pasa por las siguientes etapas: primero experimenta una especie de reacción *interna* de CANNIZZARO, o sea que se oxida perdiendo 2H en el grupo alcohólico secundario y se reduce, perdiendo un O en el grupo carboxílico; por efecto de esta reacción se convierte en metilglioxal:

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CO \\ | \\ COH \end{array}$$

que con una molécula de agua se transforma en aldehido glicérico:

$$\begin{array}{l} CH_2\cdot OH \\ | \\ CH\cdot OH \\ | \\ COH. \end{array}$$

Dos moléculas de aldehido glicérico pueden unirse y formar glucosa.

También podría llegarse directamente al metilglioxal por separación de NH_3 de la alanina: en efecto, los aldehidos cetónicos se pueden formar de este modo a partir de los aminoácidos:

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CH\cdot NH_2 \\ | \\ COOH \end{array} - NH_3 = \begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CO \\ | \\ COH. \end{array}$$

Sea como fuere, el metilglioxal representaría una fase intermedia importante y ocuparía una posición central en la transformación en azúcar de uno de los aminoácidos fundamentales; volveremos a insistir sobre ello al hablar de la descomposición del azúcar.

Adviértase que DAKIN y DUDLEY (1) han comprobado que en el organismo glucosúrico, tanto el ácido láctico y la alanina dextrógiros como los correspondientes compuestos racémicos y quizá también los levógiros producen la misma d-glucosa: en esta síntesis de la glucosa se pierde, por lo tanto, la asimetría del átomo central de C del ácido láctico y de la alanina; esto es también un argumento en favor de la formación intermedia de un cuerpo inactivo como el metilglioxal. Parece que la transformación de las proteínas en azúcar es un hecho fisiólogico y no un fenómeno debido a la anormalidad metabólica del organismo diabético o glucosúrico. Según las ideas de CHAUVEAU, que actualmente adquieren de nuevo crédito, las proteínas (y las grasas) no podrían ser utilizadas para fines energéticos sin que sufrieran una transformación previa en glucosa. Cuando se da a un organismo un exceso de proteínas, además de su cuota de gasto, de manera que deban ser utilizadas para producir energía y por lo tanto quemadas, el organismo procura desaminar rápidamente todos los aminoácidos no necesarios para los fines reparadores, elimina prontamente (en forma de urea) el grupo nitrogenado, como si quisiese desembarazarse de una escoria inútil y quizá tóxica, y luego quema, pero con menos precipitación, la cadena carbonosa, quizá no directamente sino después de transformarla en cadena de hidrato de carbono, en glucosa, que a veces pone a salvo de una combustión demasiado rápida formando reservas de glucógeno, para servirse de él en los períodos de escasez.

La cantidad precisa de glucosa que producen 100 gr. de proteínas puede calcularse con una cierta exactitud fundándose en la relación $\frac{D}{N}$. En efecto, si consideramos un diabético sometido a una dieta exenta de hidratos de carbono o un perro con glucosuria floridcínica y en ayuno, la eliminación de N urinario nos da a conocer la cantidad de proteínas diariamente metabolizadas; la glucosa urinaria — que en estas condiciones no puede proceder más que de las proteínas — es fácilmente dosificable en las 24 horas, así puede averiguarse la relación $\frac{D}{N}$ y de ésta, por una simple proporción, se puede calcular la cantidad de glucosa que se produce a partir de 100 gr. de proteínas. Supongamos que un diabético elimina 20 gr. de N urinario: éste corresponde a $20 \times 6{,}25 = 125$ gr. de proteínas destruídas (entre las corpóreas y las alimenticias). Si la cantidad de glucosa existente en la orina de 24 horas es de 80 gr., podremos decir que la relación glucoazoúrica

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XVII, pág. 451.

$\frac{D}{N} = \frac{80}{20} = 4$ y que si 125 gr. de proteínas producen 80 gr. de glucosa, 100 gr. de proteínas darán $\frac{80 \times 100}{125} = 64$ gr. de dicho azúcar.

Es frecuente encontrar en los diabéticos graves valores de $\frac{D}{N}$ comprendidos entre 3,5 y 4, y algunas veces próximos a 5, y por lo tanto podemos concluir que por lo regular 50-80 gr. de azúcar *pueden* ser formados por las proteínas. Naturalmente, las distintas proteínas tendrán en la práctica un poder glucogenético distinto, en relación con su riqueza en aminoácidos más o menos aptos para formar azúcar: la caseína es una de las proteínas más aptas para formar glucosa.

Pero en este punto nace otra cuestión: si es cierto que toda la glucosa que se forma y pasa a la orina deriva de las proteínas, ¿no podría suceder, cuando las reservas estables de hidratos de carbono en forma de glucógeno se hubiesen agotado, que las grasas se transformasen también en glucosa? ¿Pueden admitirse las grasas como tercera fuente de azúcar?

Naturalmente hay una parte de la molécula de la grasa neutra, ponderalmente muy pequeña y representada por la glicerina, que puede transformarse fácilmente en glucosa, pero cuando se habla de metamorfosis de las grasas en glucosa, nos referimos esencialmente a la transformación de la cadena de los ácidos grasos, los cuales forman más de $^{9}/_{10}$ en peso de las grasas neutras.

Químicamente es posible ciertamente la formación de azúcar a partir de los ácidos grasos, y hasta seguramente este fenómeno tiene lugar en el reino vegetal por un proceso de oxidación parcial. En el organismo animal en el cual se realizase esto, debería observarse un cociente respiratorio muy bajo, porque una parte del oxígeno tendría que servir para oxidar varios átomos de C de la cadena del ácido graso (en el cual sólo un C está hidroxilado, mientras que en los hidratos de carbono todos los C lo están) y, por lo tanto, no podría aparecer en forma de CO_2 en el aire expirado. En realidad, el diabético presenta con frecuencia un C. R. extraordinariamente bajo (por ejemplo, 0,6). Por otra parte se ha observado alguna vez, en formas graves de diabetes humana, valores de $\frac{D}{N}$ muy elevados, hasta 10-12-18, lo cual denotaría una formación de glucosa que rebasaría la posibilidad teórica (deducida de la fórmula precedente) de su producción a expensas de las proteínas únicamente. Así, 100 gr. de caseína no pueden producir, si se admite que han sido transformados *por completo* en glucosa, más que 132,5 gr. de glucosa; en el diabético que ingiere esta cantidad de proteína, se puede tener por lo tanto $\frac{D}{N} = 8{,}47$ (la caseína contiene 53 % de C y 15,6 % de N); si en un caso clínico o experimental encontramos un $\frac{D}{N} = 10\text{-}11$, estamos autorizados para

decir que la glucosa procede de algo más que de la caseína ingerida y por lo tanto (admitido el agotamiento de las reservas de glucógeno) *de las grasas.*

Recientemente algunos autores como GEELMUYDEN, LAUFBERGER y algunos otros, que volverán a ser citados a propósito de los recientes descubrimientos sobre la hormona de los islotes de Langerhans o insulina, han creído que se podía dar una importancia especial a la formación de glucosa a partir de las grasas en la diabetes y en otros estados del organismo. Así, GEELMUYDEN (1) señala que la asociación de la lipemia, de la infiltración grasosa del hígado, con desaparición del glucógeno, y de la acetonemia se encuentra en varios estados morbosos, incluyendo entre ellos la diabetes humana, la experimental por pancreotomía o por floridcina, la glucosuria de las embarazadas y asimismo, fuera de las glucosurias, en el ayuno, en el envenenamiento por el fósforo y por el cloroformo y en las formas de vómito acetonémico periódico de los niños. Existe, pues, una asociación importante: la desaparición del glucógeno reclama las grasas de reserva, de lo cual proviene que sean transportadas por la sangre *(lipemia)* y se infiltren en el hígado, donde probablemente tiene lugar su transformación en hidratos de carbono, en glucosa, combustible indispensable para el organismo. Esta infiltración grasosa es un fenómeno bastante variable: es evidente en el perro privado de páncreas, quizá porque está reducida la capacidad del hígado para transformar en azúcar la grasa que llega hasta él y la destrucción es inferior, por lo tanto, al aporte por la sangre, y es menos acentuada en la diabetes humana, en la cual dicho síntoma está frecuentemente atenuado por la no completa desaparición del glucógeno. En la pancreotomía del perro, hay efectivamente un brusco trastorno metabólico, por lo cual el azúcar no puede ser ya fijado en los lugares de reserva en forma de glucógeno y, por lo tanto, no puede ser utilizado: de aquí proviene el mayor empleo de las grasas y, por no ser suficientemente rápida la metamorfosis de éstas, de las proteínas, y a esto se debe también la destrucción acentuadísima de grasas y proteínas corpóreas. En el hombre, la enfermedad se desarrolla lentamente y el hígado puede habituarse a la intensificación de las funciones de metamorfosear la grasa en azúcar y hasta puede exaltar esta función, tanto que a veces hasta puede conseguirse una ligera producción de glucógeno y hay un pequeño ahorro de proteínas (formas crónicas de la diabetes, sin gran azouria y con balance nitrogenado relativamente normal). Sin embargo, siempre queda más o menos en evidencia lo que JUNKERSDORF (2) ha llamado el *antagonismo entre el glucógeno y la grasa en el hígado.* Según esta concepción, la transformación de las grasas en glucosa, normalmente escasa ya que no es necesaria, sería una especie de función *latente* del hígado, la cual sería puesta en actividad con intensidad variable, en

(1) *Klin. Woch.*, 1923, n.° 36.
(2) *Pflüger's Arch.*, vol. CLXXXVI.

los estados anormales; así sucedería cuando fuese necesario recurrir, para mantener una cierta proporción de azúcar en el organismo, a las reservas ternarias más estables, que son las grasas (ayuno), o cuando algo desconocido (causa diabetógena consistente quizá en la ausencia de ciertas acciones hormónicas inhibidoras) comunicase una actividad exagerada a este mecanismo químico de metamórfosis de la grasa en azúcar.

Debemos añadir, finalmente, a propósito de la formación del azúcar en el organismo, que este proceso está sometido a influencias hormónicas en dos sentidos: existen hormonas (pancreáticas) que inhiben la glucogénesis (o quizá también excitan la destrucción del azúcar) y hormonas que, por el contrario, facilitan la glucogénesis (hormonas tiroideas, hipofisarias, del tejido cromafino: de una manera característica la adrenalina, producto específico de este tejido). Las hormonas de estas tres últimas glándulas excitan la movilización de los hidratos de carbono y, actuando sobre los depósitos de glucógeno, excitan su mayor o menor destrucción, tienden, por lo tanto, a aumentar la cantidad de azúcar en la sangre (hiperglucemia por la adrenalina) y frecuentemente producen glucosuria si su actividad sobrepasa una cierta intensidad fisiológica. En cambio, la hormona antagonista, la pancreática, actúa en sentido opuesto: tiende a reducir el índice glucémico, favorece la fijación de los hidratos de carbono de reserva, por lo menos en ciertos casos (véase más adelante), e inhibe la hiperglucemia y la glucosuria producidas por la adrenalina.

Al final de este capítulo volveremos a hablar extensamente de la hormona pancreática.

Se dice frecuentemente que la triada hormónica citada disminuye el límite de tolerancia o de asimilación del organismo para los hidratos de carbono, porque estas secreciones movilizan los azúcares, facilitando la reacción: glucógeno $\rightleftarrows$ glucosa en el sentido de izquierda a derecha, y ante un aporte exagerado o una excesiva formación de hidratos de carbono, disminuyen la cantidad de éstos, que puede ser almacenada en forma de glucógeno, y, por lo tanto, aumentan las probabilidades de hiperglucemia, capaz de convertirse en glucosuria una vez rebasado el límite de resistencia renal. El páncreas (quizá las paratiroides son sinérgicas en este sentido), por el contrario, aumenta la tolerancia por los hidratos de carbono, o, como se dice también, eleva en el organismo la capacidad de asimilación de estos materiales alimenticios, quizá porque facilita la citada reacción en el sentido de derecha a izquierda, y favorece la fijación de la glucosa en forma de glucógeno; el páncreas, que es el órgano que tiene más importancia para mantener la normalidad del metabolismo de los hidratos de carbono, pone evidentemente al organismo en condiciones de utilizar el azúcar, *almacenándolo* o *quemándolo.*

b) DESINTEGRACIÓN DE LA GLUCOSA.

La glucosa sirve a las células como combustible de fácil y rápido empleo : el hecho de que en los azúcares todos los átomos de C estén hidroxilados explica su mayor labilidad molecular en comparación, por ejemplo, con las grasas, tanto que hasta la simple acción de los álcalis *in vitro* puede fragmentar la molécula. ¿ Cuáles son las etapas por las que pasa el consumo de la glucosa ?

Digamos ante todo que donde mejor se ha estudiado el proceso de la escisión del azúcar es en el músculo, en cuyo lugar se desarrolla, con la participación de una substancia inorgánica, el ácido fosfórico, con el cual entran en combinación los hidratos de carbono. Sobre esto insistiremos al tratar del metabolismo propio del músculo.

Veamos ahora, solamente desde un punto de vista general, cómo se escinde la molécula de glucosa para llegar a los productos terminales CO_2 y H_2O.

Seguiremos principalmente los conceptos sostenidos por EMBDEN y sus colaboradores (1), basados en gran parte en experimentos sobre circulación artificial en el hígado aislado. Si por un hígado aislado y privado de glucógeno se hace circular sangre pobre en glucosa, no se obtiene más que una mínima escisión de este azúcar con producción de ácido láctico. Pero si el hígado es rico en glucógeno o si se añade levulosa o glucosa a la sangre de irrigación, se asiste a una formación abundante de ácido láctico, con la particularidad que parece que la levulosa produce más ácido láctico que la glucosa.

Los leucocitos de la sangre también forman ácido láctico de la glucosa (LEVENE), y la llamada *acción glucolítica* de la sangre, tan estudiada por los autores franceses y por LÉPINE especialmente (véase también pág. 374), puede atribuirse precisamente a la acción que las células blancas de la sangre tienen sobre la glucosa, transformándola en ácido láctico y quizás después en ácidos fórmico y acético, y, finalmente, en CO_2 y H_2O (SLOSSE). Parece también, según investigaciones recientes de BÜRGER (2), que la sangre leucémica tiene un poder glucolítico aumentado.

Varias papillas de órganos presentan también *in vitro* esta capacidad para formar ácido láctico (siempre la variedad dextrógira).

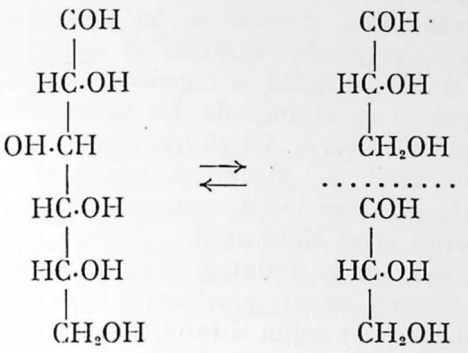
El mismo ácido se forma en el músculo que trabaja, e influye en la reacción ácida del músculo cansado. Es actualmente cierto, por lo tanto, que *una primera fase* de la desintegración de la glucosa (y de la levulosa) consiste en un proceso que se desarrolla sin intervención del oxígeno ; es un verdadero proceso *anaerobio*, gracias al cual una molécula de azúcar forma dos de ácido láctico :

$$C_6H_{12}O_6 = 2C_3H_6O_3.$$

(1) *Bioch. Zeitschr.* vol. XLV y sig. ; *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. XCIII, XCIV, XCVIII, CI, etc.

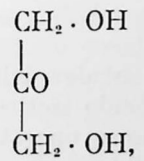
(2) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXXI, 1923.

Pero la reacción no se realiza tan sencillamente : la vía admitida por EMBDEN para llegar del azúcar al ácido láctico sería la siguiente : primero la molécula de glucosa formaría dos de aldehido glicérico :



En realidad, por condensación alcohólica del aldehido glicérico se puede formar glucosa en el organismo y, por lo tanto, puede considerarse como posible la reacción en sentido opuesto. Por otra parte, por acción de los tejidos vivos (y hasta con sangre lacada y, por consiguiente, no viva) el aldehido glicérico puede dar ácido láctico. Se ha observado que en estas experiencias no se forma ácido d-láctico como el procedente del azúcar, sino ácido láctico racémico con predominio de la variedad levógira; pero también es cierto, como observa EMBDEN, que en las experiencias citadas se parte del aldehido glicérico racémico y no del activo, normal, que verosímilmente se forma en el organismo. Posteriormente EMBDEN ha encontrado que, haciendo circular aldehido glicérico por un hígado aislado, se forma una hexosa, una sorbosa ; según él, esto sería un argumento favorable a admitir la posibilidad de la formación de aldehido glicérico a partir de la glucosa ; en este caso también debe explicarse la aparición de un azúcar que no es la verdadera glucosa, sino su estereoisómero, por la diversidad óptica del aldehido glicérico de que se parte, que es un producto comercial racémico.

Además, del aldehido glicérico difundido por el hígado se puede formar (por reducción) glicerina ; también puede producirse glicerina haciendo circular por dicho órgano la dioxiacetona :



que es isómera del aldehido glicérico y representa un azúcar (triosa) del tipo de las cetosas, de la misma manera que este aldehido repre-

senta la aldosa correspondiente. Es interesante tener presente esta posibilidad de formación de glicerina, como una vía colateral de la escisión de la glucosa, ya que la glicerina es indispensable para la síntesis de las grasas. Sea como fuere, se llega de la glucosa al ácido láctico por vía anaerobia, y hasta se ha supuesto (1) que, siguiendo un camino inverso, se puede regenerar el azúcar en el organismo a partir del ácido láctico, y quizá se regenera continua, aunque parcialmente, en el hígado y en el músculo. La ligera disminución de la glucosa de la sangre en el curso del envenenamiento por el fósforo y en la atrofia amarilla aguda del hígado, podría estar en relación con una suspensión de esta regeneración a consecuencia de las graves lesiones de la célula hepática (VON NOORDEN).

Sin embargo, una vez la desintegración ha llegado al ácido láctico, puede continuar y generalmente prosigue, y aquí interviene la *segunda fase (aerobia)* del proceso : según EMBDEN, hay una oxidación del grupo alcohólico secundario del ácido láctico, que pasa a grupo cetónico :

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CH \cdot OH + O \\ | \\ COOH \end{array} \quad \rightleftarrows \quad \begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CO + H_2O \\ | \\ COOH. \end{array}$$

Se trataría, pues, de una deshidrogenación típica, por la cual se formaría ácido pirúvico. Las razones en que se funda EMBDEN para admitir la producción de ácido pirúvico como resultado de la oxidación del ácido láctico son esencialmente dos : si se hace circular ácido láctico por el hígado con NH_3, produce alanina, y lo mismo, aunque en menor grado, hace el ácido pirúvico : por lo tanto, piensa EMBDEN — es probable que aquí se obtenga primero el ácido pirúvico a partir del láctico, y después el aminoácido, de la misma manera que en el proceso inverso se forma con facilidad ácido pirúvico por desaminación oxidante del aminoácido :

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CH \cdot NH_2 + O \\ | \\ COOH \end{array} \quad \rightleftarrows \quad \begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CO + NH_3 \\ | \\ COOH. \end{array}$$

Por otra parte, haciendo circular ácido pirúvico hasta sólo, por el hígado, forma con facilidad ácido láctico : he aquí una segunda razón para admitir también el proceso opuesto, tratándose en este caso de reacciones típicamente reversibles.

(1) DAKIN, EMBDEN, véase también el párrafo precedente.

Por descarboxilación del ácido pirúvico, se obtiene fácilmente acetaldehido :

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CO \\ | \\ COOH \end{array} \quad - CO_2 = \quad \begin{array}{l} CH \\ \| \\ COH \end{array}$$

En los tejidos se encuentran enzimas del tipo de carboxilasas ; también es un hecho demostrado la presencia de acetaldehido en la sangre de los diabéticos, y aparece, además, en las papillas de músculos de rana cuando se ponen en contacto con azúcar. Recientemente NEUBERG y GOTTSCHALK han demostrado de la manera más evidente la presencia de acetaldehido en los órganos, incluso en los mamíferos (1) : parece, pues, que esta etapa de la escisión de la glucosa, posterior a la producción de ácido láctico, es la mejor conocida.

El acetaldehido puede experimentar diversas transformaciones : puede condensarse de dos en dos moléculas y dar ácido acetacético :

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ COH \\ \cdots\cdots\cdots \\ CH_3 \\ | \\ COH \end{array} \quad \longrightarrow \quad \begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CO \\ | \\ CH_2 \\ | \\ COOH \end{array}$$

el cual puede ser reducido (con adición de 2H) a ácido β-oxibutírico :

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CH \cdot OH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ COOH, \end{array}$$

o bien puede formar acetona por pérdida fácil de CO_2 : de esta manera se llegaría a los ácidos grasos, y, por lo tanto, *el metabolismo de los hidratos de carbono engranaría en el de las grasas.*

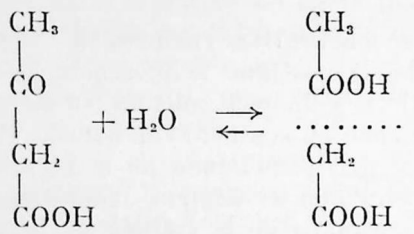
Por otra parte, el acetaldehido puede reducirse a alcohol etílico, del que se han encontrado indicios en los tejidos :

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ COH \end{array} \quad + 2H = \quad \begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CH_2OH. \end{array}$$

(1) *Klin. Woch.*, 1923, n.° 21.

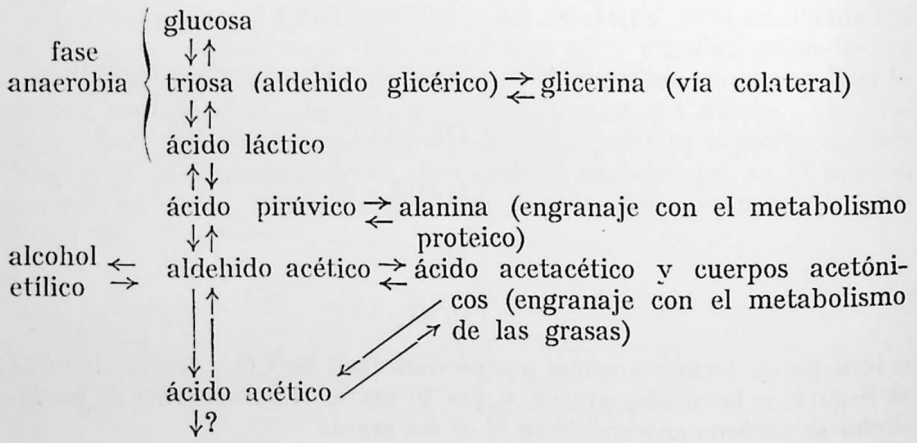
pues, haciendo circular alcohol por el hígado aislado, se forma primero acetaldehido y luego ácido acetacético, de la misma manera que haciendo circular acetaldehido se forma alcohol etílico.

Finalmente, por oxidación directa del acetaldehido puede obtenerse ácido acético, o bien puede formarse ácido acético por escisión hidrolítica del ácido acetacético originado en la condensación del acetaldehido :



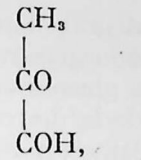
Quizá puede encontrarse una interpretación del destino consecutivo del ácido acético teniendo en cuenta las consideraciones expuestas en la página 522 al tratar de las oxidaciones intraorgánicas : tal vez entraría este caso en el ciclo de los ácidos bibásicos y así ser destruído poco a poco ; también puede verificarse la reacción de derecha a izquierda, siguiendo la fórmula antes expuesta, y volver del ácido acético al ácido acetacético y a otros cuerpos acetónicos.

Podemos reproducir el siguiente esquema de EMBDEN :

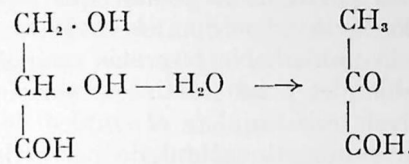


Hagamos notar que NEUBERG (1) y DUDLEY y DAKIN (2) creen que en la fase anaerobia, que llega hasta el ácido láctico, hay intercalado otro compuesto : el metilglioxal o aldehido pirúvico :

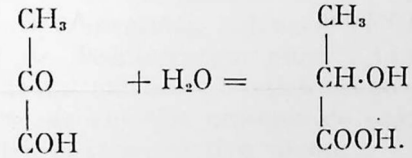
(1) *Bioch. Zeitschr.*, últimos años.
(2) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XIV, XV y siguientes.



según ya indicamos hablando de las oxidaciones intraorgánicas y como parece demostrado en la fermentación alcohólica : en el apartado *a* hemos visto como, según DAKIN y DUDLEY, el metilglioxal es un término intermedio hasta en la transformación de la alanina en glucosa, según la serie : alanina, ácido láctico, metilglioxal, aldehido glicérico y glucosa. Ahora se seguiría un orden inverso : glucosa, aldehido glicérico, metilglioxal, ácido láctico. El paso del aldehido glicérico a metilglioxal consistiría esencialmente en pérdida de H_2O :



El metilglioxal es transformado luego en ácido láctico por la acción de una enzima hidratante (hidratasa), presente en todos los tejidos, excepto en el páncreas (1), y llamada *glioxalasa* o *cetoaldehidomutasa:* es ésta una verdadera reacción interna de CANNIZZARO, que se realiza de la manera siguiente :



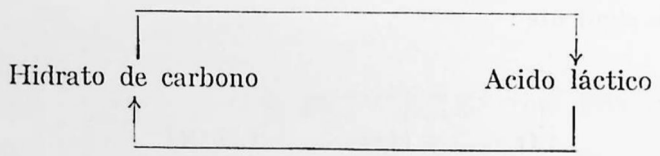
Adviértase que el páncreas contiene un agente termolábil que inhibe la acción de la glioxalasa y, por la tanto, la formación de ácido láctico del metilglioxal. Pero puede suceder que en muchos tejidos no se llegue siquiera a la formación de ácido láctico y que el metilglioxal sea quizá oxidado en ácido pirúvico (tal vez con producción de ácido fórmico), siendo entonces el ácido láctico, igual que las fermentaciones, como una especie de producto colateral que aparece cuando está inhibido el proceso desintegrativo normal. Estas cuestiones no están aun del todo aclaradas.

Actualmente se va reconociendo cada vez más la importancia, no sólo para el músculo, sino probablemente para todos los tejidos, de las relaciones puestas en evidencia por MEYERHOF, entre destrucción total

(1) DAKIN y DUDLEY, *Journ. of biol. Chem.*, vol. XIV.

o combustión (oxidación) integral de la glucosa y su nueva síntesis en glucógeno. En efecto, cuando por medio del proceso anaerobio de escisión de la molécula de la glucosa en dos moléculas de ácido láctico se ha llegado a esta etapa de la destrucción del azúcar, interviene un hecho (correspondiendo a MEYERHOF el mérito de haberlo evaluado cuidadosamente hasta desde el punto de vista cuantitativo): el ácido láctico desaparece, hasta tal punto que no se encuentra nunca, a no ser en el músculo muy fatigado, y se consume O_2; los dos fenómenos están íntimamente relacionados, porque en ausencia de O_2 (músculo que trabaja anaeróbicamente) se acumula ácido láctico. Existe una relación cuantitativa entre los dos fenómenos en el sentido de que se consume demasiado poco O_2 para que *todo* el ácido láctico pueda ser quemado hasta los productos terminales CO_2 y H_2O: precisamente el O_2 consumido es $^1/_3$ ó $^1/_6$ del que se necesitaría para quemar todo el oxiácido que se forma. Por otra parte, no es posible que haya una combustión incompleta del ácido láctico, porque el cociente respiratorio en el músculo es igual a la unidad. No hay más remedio que admitir que una parte considerable del ácido láctico experimenta una *resíntesis* en glucógeno. Esta resíntesis requiere el empleo de energía y ésta es proporcionada por la combustión total de parte del ácido láctico, o, según las ideas más recientes, por la combustión de una nueva cantidad equivalente de hidrato de carbono.

Se realiza, pues, el siguiente *ciclo* reactivo *(ciclo de Meyerhof)*:



La reacción hidrato de carbono —— ac. láctico es exotérmica, con desarrollo relativamente de poca energía, y anaerobia; la reacción opuesta (resíntesis del hidrato de carbono) necesita el empleo de energía, no puede realizarse espontáneamente y la energía es proporcionada por una *reacción acoplada de oxidación* a cargo de parte del ácido láctico o de nueva cantidad de hidrato de carbono.

Además de tener lugar en el músculo, este proceso fundamental y esta relación entre síntesis y combustión de los hidratos de carbono se ha demostrado en otras células. Parece que tal vez la energía para la reacción sintética sea proporcionada por la combustión de cuerpos distintos de los hidratos de carbono (GOTTSCHALK).

Cuando la oxidación (respiración) no es suficientemente intensa, como en ciertos tejidos que *pueden* vivir en anaerobiosis facultativa y que hasta en aerobiosis no tienen preferencia para aquella fuente de energía de alto rendimiento que es la oxidación, entonces se acumula

ácido láctico. Se debe a WARBURG y a su escuela (1) la aplicación de este concepto al estudio de la biología de los tumores: la célula de los tumores malignos, debe la mayor parte de la energía necesaria para sus funciones y sobre todo para la intensa multiplicación, a fenómenos de *simple glucolisis* o escisión de la glucosa en ácido láctico, y como esta reacción (anaerobia) desarrolla relativamente poca energía, la célula necesita grandes cantidades de substrato para compensar la escasez de rendimiento. La célula neoplásica vive, pues, como la de una levadura anaerobia facultativa y fabrica cantidades relativamente enormes de ácido láctico (pág. 532), por ejemplo, una cantidad igual a su propio peso en pocas horas, con tal de que tenga glucosa a su disposición. Hasta en condiciones aerobias la célula cancerosa continúa prefiriendo la simple escisión anaerobia de la glucosa a la oxidación total: de 13 moléculas de glucosa, la célula de los tumores malignos, según las experiencias in vitro de WARBURG, divide 12 (en 24 de oxiácido) y quema una sola. Este último hecho, la persistencia de la forma puramente desintegrativa del metabolismo, esto es, de la simple escisión de la glucosa en ácido láctico, *hasta* en presencia de O_2, caracteriza verdaderamente el tipo de metabolismo de la célula neoplásica maligna: WARBURG habla de *glucolisis aerobia*, como característica de los tumores, para dar a entender precisamente la tendencia a vivir a expensas de la escisión de la glucosa, sin intervención de O_2, hasta en condiciones experimentales aerobias, esto es, la impotencia de la respiración para hacer desaparecer los efectos de la simple glucolisis o reprimirla. La posibilidad de una amplia escisión de la glucosa en ácido láctico, existe también en varios tejidos normales, especialmente en los embrionarios y en los de crecimiento rápido; éstos pueden, en condiciones *anaerobias* experimentales, detenerse en el amplio desarrollo de la primera fase de desintegración pura y formar mucho ácido láctico, que no puede ser oxidado ni resintetizado posteriormente por falta de O_2, por falta de aquellos procesos de oxidación que proporcionan la fuerza motriz al ciclo reactivo citado.

WARBURG ha dicho que no hay crecimiento de tejido sin amplia glucolisis (entendiendo con esto la escisión anaeróbica). Pero lo que caracteriza precisamente a los tumores, en especial a los malignos, es la permanencia prevalente del mismo tipo metabólico en presencia de O_2: la llamada *glucolisis aerobia*. Las células neoplásicas se han desligado en gran parte de la necesidad de O_2, con tal de que tengan a su disposición mucha glucosa: por esto son muy sensibles a las oscilaciones del contenido de la sangre en glucosa, según observaciones que han demostrado que la administración abundante de glucosa por vía parenteral excita el desarollo neoplásico (2) y, al contrario, que la administración de insulina atenúa el desarrollo de los tumores (3).

(1) Véase el libro reciente: *Der Stoffwechsel der Tumoren*, ed. Springer, Berlín.
(2) RONDONI, *Bioch. e terap. sperim.*, 1926.
(3) SILBERSTEIN y colaboradores, *Wien. Klin. Woch.*, 1925; PICCALUGA e CIOFFARI, *Tumori*, 1926.

Las células neoplásicas se conservan in vitro, en atmósfera de nitrógeno, y viven y son trasplantables durante mucho tiempo, con tal de que tengan azúcar a su disposición en el líquido de RINGER en que están en suspensión (WARBURG). En el organismo las células neoplásicas viven bien en condiciones de oxigenación insuficiente, la cual es debida a una vascularización siempre incompleta de las masas neoplásicas de desarrollo rápido: esta aptitud para un tipo de metabolismo sencillo, anaerobio, las hace, en cierto modo, vivaces hasta en condiciones en las cuales las células normales, más exigentes en lo referente al O_2, mueren.

Tenemos así una elegante explicación de la *malignidad*, fundada en bases bioquímicas. Naturalmente, esta relativa anaerobiosis es facultativa: como observan WARBURG, WIND y NEGELEIN (1), hay dos reacciones capaces de proporcionar energía a la célula neoplásica: la oxidación y la simple escisión (fermentación) de la glucosa; aun cuando la célula prefiere esta segunda, sin embargo, si la glucosa se hace escasa, la célula sabrá también recurrir a la primera, de mayor rendimiento energético. Para suprimir la vitalidad de las células neoplásicas no basta, por lo tanto, impedir el aprovisionamiento por medio de la supresión de la escisión de la glucosa en oxiácido, sino que sería necesario suprimir las dos reacciones, reducir el aporte de O_2 y de glucosa al mismo tiempo.

Parece comprobado que también en vivo las células de los tumores producen mucho ácido láctico: este cuerpo no puede demostrarse fácilmente en la sangre y en la orina de los cancerosos porque es fácil y prontamente destruído o resintetizado en hidrato de carbono por otros tejidos. Pero la riqueza en ácido láctico de los tumores malignos había sido ya notada, por ejemplo, por FULCI hace ya muchos años (2).

Hay quien supone que la presencia de ácido láctico en el contenido gástrico en caso de cáncer del estómago depende de esta actividad de las células neoplásicas más que de la fermentación láctica anormal del contenido producida por los conocidos *bacilos de Boas-Oppler*.

Estas modernas investigaciones explican *hasta cierto punto* la malignidad de las células del cáncer y de otros tumores, pero no pueden tener ningún significado etiológico. No sabemos siquiera con seguridad si aquel tipo metabólico, con predominio de las escisiones sobre las oxidaciones, es una característica verdaderamente específica del tumor: el mismo WARBURG ha dado a conocer que, entre los tejidos normales, la *retina* (en la cual, por lo que se sabe, no hay procesos proliferativos verdaderamente activos) tiene una glucolisis intensa, hasta en condiciones aerobias, casi como el tejido neoplásico. WARBURG parece inclinarse a considerar esto en relación con la gran labilidad de aquel tejido, que pierde rápidamente in vitro la capacidad para la oxidación

(1) *Klin. Woch.*, 1926, n.° 19.
(2) Véase además un artículo citado en *Bioche Terap. sperim.*

(respiración) mientras que conserva la función glucolítica, más sencilla, y, por lo tanto, sólo aparentemente se comporta en los experimentos con la técnica usual, de la misma manera que las células neoplásicas. De todos modos, es posible que las células neoplásicas hayan adquirido esta aptitud para la glucolisis, esto es, su característica metabólica, que implica la posibilidad de una vida anaerobia, por *vía secundaria*, como efecto de una selección entre elementos celulares indiferenciados; estas células pueden tener este tipo de metabolismo porque son malignas sin que sean malignas porque tengan este tipo de metabolismo (véase también el final del cap. VIII, de la Sec. II).

La levulosa es más rápidamente atacada y destruída que la lactosa: BORNSTEIN y HOLM (1) administraron 100 gr. de levulosa o de glucosa a hombres en ayunas y observaron que la primera aumenta inmediatamente las combustiones, mientras que la segunda sólo se quema desde los 30 minutos hasta hora y media después de la ingestión.

Las pentosas sólo son quemadas escasamente por los tejidos, aun cuando su utilización quizá aumente cuando se suministra a dosis elevadas. Citemos las recientes comprobaciones de RUSSEL (2), según el cual los tejidos neoplásicos de las ratas atacarían a las pentosas, cosa que no hacen los tejidos normales. Finalmente, parece que ciertos factores vitamínicos aceleran de una manera especial la combustión de los azúcares.

c) LA GLUCOSURIA, LA DIABETES Y LA INSULINA; OTRAS HIDRATURIAS.

La *glucosuria* puede sobrevenir *por un aumento de la cantidad de azúcar en la sangre*, suficiente para que la barrera renal sea forzada, ya que el azúcar es una substancia-límite (CUSHNY), es decir, una substancia que no es eliminada por el riñón mientras no exceda cierta concentración en la sangre. Pero también puede aparecer la glucosuria *por permeabilidad anormal del mismo riñón*, por una disminución del límite mínimo normal de la glucosa, por debajo del cual el riñón es capaz de retener este componente de la sangre.

Este segundo caso (diabetes renal, típicamente reproducible con la floridcina según ya hemos dicho) está caracterizado por glucosuria sin hiperglucemia, hasta con hipoglucemia. Todas las demás glucosurias, sean transitorias o permanentes y relacionadas con una verdadera diabetes (en la cual la glucosuria no es el único elemento sintomático), van compañadas de hiperglucemia, y la glucosuria no es más que la consecuencia, normal en sí misma, de la hiperglucemia que rebasa el límite fisiológico.

En las glucosurias con hiperglucemia, ésta puede ser consecuencia de varios factores:

(1) *Bioch. Zeitschr.*, vol. CXXX.
(2) *Eigth Sc. Rep. Imp. Cancer Res. Fund.*, 1923.

1.° Factores nerviosos, que actúan sobre el mecanismo de movilización o, viceversa, de almacenamiento del azúcar. Es característica la glucosuria por punción del suelo del cuarto ventrículo y otras de origen nervioso (pueden quizá incluirse aquí las producidas por el óxido de carbono y otros venenos que actúan, generalmente por un mecanismo de asfixia, como estimulante de los centros nerviosos); existen otros centros nerviosos reguladores del metabolismo de los hidratos de carbono, de efecto superior al de los bulbares, que están situados en el hipotálamo y quizá también en los cuerpos estriados (1). Se comprende así que un traumatismo que actúe sobre regiones muy variadas del sistema nervioso central pueda producir glucosuria. También en la conmoción cerebral existe glucosuria de este origen; se observan, finalmente, glucosurias puramente *emotivas*, para cuyo estudio remitimos al reciente trabajo de BUSCAINO (2). Parece que el estímulo nervioso se descargue, por lo menos en parte, *por la vía del simpático* sobre las cápsulas suprarrenales y actúe en sentido excito-secretor del tejido cromafino, y que la adrenalina así producida en exceso sea la que a su vez obre sobre los depósitos de glucógeno del hígado movilizando el azúcar: sería, por lo tanto, una glucosuria de origen siempre hormo-nervioso. Actualmente se conocen también hiperglucemias y glucosurias *por estímulo del parasimpático.*

2.° Factores hormónicos puros o primitivos. Ya hemos citado la adrenalina como agente glucosúrico porque produce aumento de la formación de glucosa procedente del glucógeno y, como consecuencia, hiperglucemia. Queremos añadir solamente que, según BORNSTEIN y sus colaboradores (3), parece que el azúcar movilizado por la adrenalina es quizá menos fácilmente combustible en el organismo que el que normalmente se encuentra en la sangre o aumenta en ella a causa de otras hiperglucemias. Las hormonas tiroideas provocan también hiperglucemia y glucosuria, y lo mismo sucede con las del lóbulo intermedio de la hipófisis (según recientes confirmaciones de ZLOCZOWER) (4). A propósito de la insulina, nos ocuparemos de las acciones hormónicas antagonistas. Según las ideas recientes (también de PENDE en Italia), en la génesis de la diabetes tendría importancia fundamental un desequilibrio hormónico.

3.° El factor de la *diszooamilia* (NAUNYN), es decir, de la reducción o abolición de la capacidad del hígado y de otros órganos para fijar la glucosa en forma de glucógeno. Este factor podría ser dependiente de los precedentes; pero no hay ninguna razón para negar una insuficiencia primitiva del hígado, el principal depósito regulador de la relación entre los hidratos de carbono fijos y los circulantes, que vería disminuídas sus facultades para fijar la glucosa. La génesis hepática de la diabetes parecía eliminada por varios autores modernos, tales

(1) DRESEL, *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXXVII, fasc. 3-6, 1923.
(2) *Rivista Patologia nervosa e mentale*, vol. XXV, fasc. 3 y 4, 1920.
(3-4) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXXVII, fasc. 1 y 2, 1923.

como, por ejemplo, UMBER en su conocido tratado acerca de las enfermedades del metabolismo. Sin embargo, ha sido rehabilitada recientemente por FISCHLER (1).

4.° El factor puramente alimenticio, también relacionado con los precedentes. Si el aporte de azúcar de los alimentos llevado por la vena porta al hígado es exagerado, aparece una diszooamilia, que podríamos llamar *relativa* y hasta cierto punto fisiológica, porque el hígado es impotente para dominar la ola enorme de azúcar que le llega y no tiene tiempo para fijarla; una parte de la glucosa va a aumentar la concentración del azúcar en la sangre y, cuando sobrepasa el límite normal, la barrera renal es franqueada y aparece la glucosuria; véase también el capítulo sobre química de la sangre. Las pruebas de la glucosuria y de la levulosuria provocadas, especialmente esta última por la mayor facilidad de combustión de la levulosa, han sido recomendadas para explorar el organismo acerca de la tolerancia respecto a los hidratos de carbono, permiten en clínica fijar el límite de asimilación y hasta dan una idea acerca de la capacidad funcional del hígado, el órgano principal de depósito y de desintegración ulterior. La dosis de azúcar normalmente ingerible (en ayunas y de una sola vez) sin glucosuria consecutiva es de 100 gr. Siempre que a esta dosis de algún monosacárido suceda una glucosuria, puede hablarse de descenso del límite de asimilación o de utilización de los hidratos de carbono y puede ser una indicación de trastornos endocrinos o de tendencia a la diabetes. Un síntoma más grave que el de esta glucosuria *de azúcar* es la glucosuria alimenticia *por almidón;* el hombre normal sea cual fuere la cantidad de almidón (substancias feculentas, pan, etc.) que ingiera, nunca presenta glucosuria, porque el almidón debe ser escindido en el tubo digestivo y para ello se requieren algunas horas, por lo cual la absorción del azúcar se verifica poco a poco y no da lugar a un aumento excesivamente elevado y brusco del índice glucémico. La glucosuria consecutiva a una comida de hidratos de carbono en forma de substancias feculentas indica siempre un notable descenso de la tolerancia para los hidratos de carbono: es ya un pequeño signo de diabetes. Notemos que las pentosas son siempre eliminadas por la orina, aunque se ingieran a dosis de 1 gr. o menos; tienen un límite de tolerancia muy reducido, son fisiológicamente muy poco atacadas y utilizadas por el organismo, pero pueden ser fijadas en pequeña cantidad en forma de glucógeno (FISCHLER).

5.° El factor de la formación exagerada de azúcar. A este factor vuelve a dársele importancia, con v. NOORDEN, en la génesis de la verdadera diabetes mellitus; en parte se conexiona con la diszooamilia citada, en cuanto la excesiva formación de azúcar podría también tener relación con el agotamiento de los depósitos normales, tanto es así que un carácter histoquímico del hígado diabético es la pobreza en glucógeno, máxima en la diabetes experimental por pancreotomía y

(1) *Physiol. u. Pathol. d. Leber*, Springer, Berlín, 1916.

menor en las formas humanas espontáneas. Sin embargo, no hay que olvidar que a veces se encuentra glucógeno en otros tejidos (músculos, etc.) hasta cuando el hígado está empobrecido: esto es cierto para muchas formas de azoomilia hepática experimental (por ejemplo, por extirpación de las glándulas suprarrenales, según BORNSTEIN, ya citado) y también lo es para la diabetes humana, en la cual hasta podría decirse que es característica la distribución anormal del glucógeno, que, escaso en el hígado (infiltrado de grasa: véase § *a)*, se encuentra infiltrado en el riñón en las asas de Henle o quizá mejor en la porción distal de los tubos contorneados de primer orden, en los leucocitos, en varios tejidos y, finalmente, en las células nerviosas, en donde las reacciones histoquímicas nunca revelan la presencia de glucógeno en circunstancias normales. Pero el exceso de formación de azúcar no solamente podría llevarse a cabo a expensas de los depósitos de glucógeno, sino, aun mejor, a partir de las proteínas y de las grasas: sobre esta opinión ya hemos indicado la posibilidad hasta fisiológica de la formación de glucosa a expensas de las grasas y de las proteínas. Incluso algunos investigadores, como GEELMUYDEN, veremos que son enteramente favorables a admitir la génesis de la glucosa a expensas de la grasa en la diabetes. Hay una objeción fundamental: en la diabetes la grasa no parece aumentar la eliminación de glucosa por la orina y hasta, según muchos médicos, las grasas proporcionan el material alimenticio más adecuado para los diabéticos, que las utilizarían bien sin aumentar la intensidad metabólica, como sucede con las proteínas. Puede contestarse que existen observaciones no tan favorables al empleo de las grasas, y que la relación entre la ingestión de grasas y la eliminación de azúcar puede no ser muy evidente por el largo camino metabólico que recorre el alimento hasta su transformación y aparición en forma de azúcar en la orina (GEELMUYDEN). Las infiltraciones anormales de glucógeno en muchos órganos y tejidos del diabético parece que pueden ser un indicio de esta formación de hidratos de carbono a expensas de las grasas o de las proteínas, y tener casi un significado de degeneración en el sentido histopatológico: en las células, atacadas de un profundo trastorno metabólico, se forman azúcares por descomposición de constituyentes celulares de otra naturaleza, y como además existe una sobrecarga de azúcar en la sangre, una parte queda en la célula misma y se deposita en la forma acostumbrada y coloidamente compleja que es el glucógeno.

Por lo demás, ya había notado v. NOORDEN las relaciones que existen entre la diabetes y la polisarcia, que podrían ser una indicación de transformaciones anormales en los dos sentidos, de grasa en azúcar y de azúcar en grasa (como si — dice v. NOORDEN — ciertos diabéticos o diabéticos en potencia, además de eliminar el azúcar por la orina o en vez de desembarazarse de él por esta vía, lo vertiesen al tejido subcutáneo y perivisceral, *en forma de grasa)*.

6.° El factor del consumo de azúcar. El índice glucémico puede crecer en los casos de combustiones intraorgánicas disminuídas, con

lo cual el azúcar llegado normalmente con los alimentos no es quemado. Un trastorno en este sentido debería, teóricamente por lo menos, conducir a esta sucesión de hechos: aporte regular de azúcar con los alimentos, formación regular de éste de las grasas o proteínas, almacenamiento hasta saturación de los depósitos, especialmente del principal, que es el hígado, y *solamente después* hiperglucemia. Esta hipótesis, aplicada a la génesis de la diabetes humana y de la provocada por pancreotomía en el perro, choca con la dificultad de que el hígado, especialmente en el segundo, es pobre o pobrísimo en glucógeno. De todas maneras, existen experimentos que deberían probar, por ejemplo, que los órganos (corazón, músculos) de los animales a los que se ha extirpado el páncreas consumen menos glucosa que normalmente a no la queman completamente, y que hasta el páncreas contiene substancias activadoras del poder glucolítico de los órganos (LAMBLING): mientras que, por otra parte, existen una serie de investigaciones con resultado opuesto, que comprueban que los órganos aislados de los animales diabéticos consumen tanta glucosa como en condiciones normales (1). En la diabetes se ha notado también la eficacia terapéutica de los preparados a base de levaduras, esto es, de materiales que, por su contenido en enzimas glucolíticas y quizá también por contener vitamina B, deben elevar el poder oxidante a expensas de los hidratos de carbono.

La teoría de la *glucolisis disminuída* (MINKOWISKI) en la diabetes, sobre todo en la de origen puramente pancreático del hombre y en la de los perros pancreotomizados, se encuentra aún bastante confirmada, no obstante tener varios puntos débiles; pero quizá acierta GRAFE (2) cuando dice que en la diabetes podrían estar alteradas tanto la glucogénesis como la glucolisis. Estos dos últimos factores están, como se comprende, relacionados con los precedentes, siendo modificadas la glucogénesis y la glucolisis por agentes hormónicos, nerviosos, etc.

La diabetes mellitus humana no es una simple glucosuria; simultáneamente con ésta, la mayor o menor impotencia que posee el organismo para utilizar los hidratos de carbono que se eliminan por la orina, significa una pérdida de material energéticamente precioso, que el enfermo debe compensar con el aumento de otros factores alimenticios, los albuminoides y las grasas: ésta es la génesis de la polifagia diabética. El diabético es un hambriento; si consideramos las formas de leve y mediana gravedad, veremos que en el fondo su metabolismo es simplemente el de un hipoalimentado, y como por lo general ingiere y metaboliza muchas proteínas, elimina mucho N. Pero si sus necesidades energéticas están bien cubiertas por las grasas, si la forma, no grave, consiente aunque no sea más que una utilización reducida de los hidratos de carbono, el diabético de este tipo puede conservarse

(1) PARNAS, *Bioch. Zeitschr.*, vol. CXVI; LESSER, *Ibid.*, vol. CIII: PATTERSON y colaboradores, *Journ. of Physiol.*, vol. XLVII.
(2) *Pathol. Physiol. d. gesamt. Stoff-u. Kraftwechsels*, Bergmann, 1923.

perfectamente en equilibrio de N, y hasta v. NOORDEN advierte que puede habituarse a cantidades relativamente bajas de albuminoides, con fácil economía de N, igual que el organismo hambriento que se amolda a un metabolismo económico y tiene un desgaste de tejidos relativamente escaso. Muy distinto es el metabolismo en las formas graves: el metabolismo basal está aumentado y han crecido las oxidaciones (según datos de BENEDICT y JOSLIN) (1), la eliminación de N ha crecido también y — como sucede en las formas graves por pancreotomía en el perro — es imposible mantener el equilibrio del N, existe una verdadera *azouria* y una verdadera fusión de las proteína corpóreas que nada puede detener y que parece tener una génesis tóxica: la alimentación, especialmente la proteica, tiene un efecto particularmente excitante sobre este metabolismo exaltado (he aquí una de las bases de la *cura de hambre*, con dietas más o menos reducidas, con la dieta de frutas, etc.). Los estados de *acidosis* que en estas formas graves traspasan los límites de la acidosis normal por ayuno, explican varias características del metabolismo como el aumento del N amoniacal en relación con el ureico (el NH_3 sirve como medio de neutralización de los ácidos orgánicos de origen endógeno y es, por lo tanto, sustraído a la síntesis de la urea). En el capítulo siguiente trataremos de la naturaleza y origen de estos ácidos orgánicos (oxiácidos y cetoácidos) y de la *cetosis* o *acetonemia* diabética relacionada con ellos, porque se trata esencialmente de un trastorno característico del metabolismo de las grasas, que aparece *cuando los hidratos de carbono escasean o no son utilizables en el organismo.*

La diabetes, como el ayuno y la fiebre, está caracterizada por esta cetosis o formación de cuerpos acetónicos; pero en la diabetes grave existe quizá una perversión metabólica más extensa, más de lo que corresponde a la simple hambre de hidratos de carbono. En el coma diabético se encuentra el mejor ejemplo de acidosis grave y frecuentemente no compensada (Sección II, Cap. VI, *b*). Hemos hablado ya de la lipemia diabética y de su probable significación (pág. 560). A veces en la diabetes hay una eliminación urinaria de otros sacáridos (una *hidraturia* compleja): maltosuria, levulosuria (la levulosa procede de la levulosa alimenticia, que generalmente es mejor utilizada por el diabético que la glucosa: la levulosuria es, por consiguiente, un signo de gravedad) y pentosuria, esta última, dudosa; en diabéticas grávidas o durante el puerperio se ha observado lactosuria (que puede también encontrarse normalmente, sin diabetes, en estas mujeres, por reabsorción de la lactosa en las mamas). La presencia de maltosa en la orina es de sospechar, cuando los valores polarimétricos superan a los obtenidos con las pruebas químicas de reducción.

En los diabéticos puede haber un aumento de la eliminación de ácido glucurónico.

(1) *Deutsch. Arch. f. klin. Med.*, vol. CXI, 1913.

La gran eliminación de substancias disueltas (cristaloides) por las vías urinarias arrastra en los diabéticos una gran cantidad de agua; quizá también por la infiltración glucogénica de las asas de Henle está impedida la reabsorción de agua a este nivel: así podría explicarse la *poliuria* característica.

La diabetes mellitus típica tiene, pues, una patogenia compleja; si bien no puede negarse, como cree acertadamente FISCHLER, la existencia de formas hepatógenas, si es cierto que existen glucosurias neurógenas o renales que sólo tienen de común con la diabetes algunos síntomas, es sin embargo cada vez más cierto que el lugar de preferencia en la génesis de la diabetes lo ocupa una insuficiencia funcional (frecuentemente unida a verdaderas lesiones anatómicas, esclerosis, etc.) de los islotes de Langerhans. No sabemos todavía cómo la secreción interna de esta porción endocrina del páncreas interviene en el metabolismo: si actúa inhibiendo la glucogénesis o excitando la glucolisis, si se trata de un mecanismo *central* que influye en los depósitos de glucógeno o de un fenómeno *periférico* que afecta la glucolisis o combustión de la glucosa en los órganos. Este proceso, que aún desconocemos, no es más que el mecanismo de acción de la *insulina*, la hormona pancreática (islotes de Langerhans) recientemente descubierta, y sobre la que debemos hablar un poco más extensamente.

Insulina. — Las investigaciones encaminadas a poner en evidencia la *hormona pancreática*, que por las clásicas experiencias de MEHRING y MINKOWSKI y DE DOMINICIS se consideraba desde hace mucho tiempo como relacionada con el metabolismo de los hidratos de carbono y cuya ausencia debía producir la diabetes experimental por pancrectomía y seguramente muchas formas de diabetes humana, han sido numerosísimas y durante muchos años poco fecundas en resultados positivos. La prueba de la posición central, por decirlo así, del páncreas y precisamente de su porción endocrina, los *islotes de Langerhans*, en la génesis de la diabetes se deducía especialmente de los datos anatomo-patológicos y clínicos y de las observaciones de las consecuencias de la extirpación de dicho órgano, pero solamente se había logrado demostrar de un modo bastante inseguro e incompleto que el extracto glandular, y precisamente el de la porción insular, tenía acción antidiabética (en el hombre naturalmente enfermo o en el perro pancrectomizado) y en general antiglucémica y antiglucosúrica.

Las experiencias de administración oral de páncreas fresco o de extractos pancreáticos habían dado siempre resultado negativo. Los experimentos de inyección por vía parenteral de extractos integrales de páncreas (porciones exocrina y endocrina mezcladas) fueron hechas primeramente por CAPPARELLI (1) y después por BATTISTINI (2) y por VANNI (3); estos autores italianos, precursores que tenían que luchar con la acostumbrada escasez de medios y con nuestra tendencia a no

(1) *Biol. Centralbl.*, vol. XII, pág. 606, 1892.
(2) *Therap. Monatshefte*, octubre 1893.
(3) *Arch. Ital. di Clinica medica.*, 1894, n.° 2.

profundizar e insistir sobre las cosas, obtuvieron algún resultado positivo, no despreciable aunque incierto; así, CAPPARELLI observó que en los perros pancrectomizados desaparecía la glucosuria como consecuencia de la inyección peritoneal de extracto acuoso de páncreas Más tarde ZUELZER (1) vió retrogradar la glucosuria y la acetonemia en individuos diabéticos, por la administración de extractos pancreáticos. Luego SCOTT (2) y también KLEINER y MELTZNER (3) y KLEINER (4) observaron aun más claramente la acción antidiabética experimental del extracto de páncreas, y hasta SCOTT tuvo la idea tan fructífera luego, de separar las dos porciones del páncreas y utilizar sólo las secreciones internas de los islotes de Langerhans, practicando la ligadura del conducto excretor que hace degenerar los acinis de la porción exocrina. Fueron SCHULTZE (5) y SCOBOLEW (6) los que demostraron con seguridad que solamente los islotes de Langerhans tenían importancia en la regulación del metabolismo de los hidratos de carbono, porque la degeneración completa de la porción de secreción externa no va acompañada de hiperglucemia y glucosuria mientras los islotes permanecen íntegros. Parece extraño que no se haya pensado antes en utilizar páncreas con porción exocrina degenerada para tener extractos puros de las ínsulas, no modificados por la presencia simultánea de los fermentos (tóxicos y alterantes) de la secreción externa. DIAMARE y KULIABKO (7) y RENNIE (8) tuvieron ciertamente la idea de disecar la ínsulas de los peces teleósteos, en cuyos animales son grandes y bien aislables del tejido exocrino, y preparar extractos de ellas; obtuvieron algún resultado feliz, pero tampoco estos autores prosiguieron las investigaciones por este camino, que después ha demostrado ser tan fecundo.

Fundándose en la concepción de LÉPINE (9) de que la sangre y los tejidos contienen un fermento glucolítico de origen pancreático, se han realizado numerosas experiencias de inyección de sangre y linfa de animales normales o de líquido de transfusión del páncreas en animales pancrectomizados y realmente la demostración de un principio activo de origen pancreático circulante por la sangre y con influencia en el metabolismo de los hidratos de carbono en el sentido de oponerse a la hiperglucemia y a la glucosuria, puede decirse que ha tenido éxito en algunos casos, como en el de HEDON (10) que ciertamente, como dice STAUB (11), ha practicado la transfusión de la *insulina*.

(1) *Deutsch. med. Woch.*, 1908, pág. 1380.
(2) *Amer. Journ. of Physiol.*, vol. XXIX, 1911-1912.
(3) *Journ. of exper. Med.*, vol. XXIII, 1916, pág. 507.
(4) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XL, 1919.
(5) *Arch. f. mikrosk. Anat. u. Entwickelungsg.* 1900.
(6) *Centralbl. f. Pathol*, vol. XI, 1900, pág. 202.
(7) *Centralbl. f. Physiol.*, vol. XVIII, 1904, pág. 432.
(8) *Id.*, pág. 729, 1905.
(9) Data del año 1890 y está resumida en : *Le sucre du sang*, París, 1921.
(10) *Compt. rend. Soc. de biol.*, vol. LXVII, 1910 ; *Arch. intern. de Physiol.*, volumen XII. 1913.
(11) *Klin. Woch.*, 1923, n° 45 y 46.

El investigador americano BANTING y sus colaboradores (1920-1923) han designado con este nombre de *insulina* el principio activo de los islotes de Langerhans. BANTING y BEST (1) pensaron que los fracasos e incertidumbres de los investigadores precedentes eran debidos a la destrucción del principio activo de los islotes de Langerhans por parte de la tripsina de los acinis pancreáticos y, para eliminar con seguridad esta última, idearon preparar extractos de páncreas cuyo conducto excretor habían ligado previamente, con lo cual presentaban una atrofia completa de la porción exocrina. Estos extractos de páncreas atrofiado se revelaron muy activos en los perros pancrectomizados. Después BANTING y BEST emplearon extractos de páncreas de fetos de ternera, en los cuales los islotes de Langerhans están bien desarrollados y funcionan mucho antes de que se desarrollen y funcionen los acinis de la porción exocrina. Fué posible demostrar más tarde que la hormona insular era soluble en alcohol, lo cual simplificó la extracción y permitió recurrir hasta a los páncreas de animales adultos sin necesidad de someterlos a ninguna preparación especial para excluir el tejido exocrino. COLLIP, químico canadiense, prestó su ayuda y así se pudo obtener en 1922 (2) los primeros extractos aproteínicos, inoculables subcutáneamente al hombre, y ensayarlos en el tratamiento de la diabetes.

He aquí el método original de COLLIP (3) para la extracción y preparación del principio activo de los islotes de Langerhans, denominado *insulina:*

Se tritura páncreas fresco de buey y se mezcla con un volumen igual de alcohol de 95°; después de algunas horas (agitando frecuentemente) se exprime la papilla a través de un paño y se filtra el líquido que escurre. El filtrado contiene la hormona, que se purifica empezando por precipitar el exceso de proteínas por adición de 2 volúmenes de alcohol de 95°; el precipitado albuminoideo es separado por filtración, y el líquido filtrado se concentra en el vacío a 18°-30° (pero no a temperatura superior). El material, reducido así a pequeño volumen, se diluye con agua, se pasa a un embudo de separación y se trata dos veces con éter, que atrastra los lipoides, el líquido acuoso residual es concentrado nuevamente en el vacío hasta consistencia de pasta.

Entonces se añade alcohol de 80°, que precipita muchas sales y proteínas aun presentes, y luego se centrifuga; la capa alcohólica que se reúne por encima del sedimento contiene la insulina. Se aspira con una pipeta y se le añaden algunos volúmenes de alcohol absoluto, que precipita el principio activo en forma de copos amarillentos, los cuales se adhieren entre sí y al cristal de tal manera que se puede verter

(1) *Journ. of Labor. a. clinic. Med*, vol.. VII, pág. 251, 1922 ; vol. VIII, página 464 ; *Comm. to the Acad. of Med.*, Toronto 7-II.
(2) BANTING, BEST, COLLIP, CAMPBELL y FLETCHER, *Canadian med. Assoc. Journ.*, vol. XII, pág. 141.
(3) *Journ. biol. Chem.*, vol. LV, n.° 2, 1923.

cómodamente el alcohol. Los copos se disuelven en agua destilada, y se concentran después al vacío hasta llegar al volumen deseado; se pasa por un filtro Berkefeld, se comprueba la esterilidad del líquido, se isotoniza y se distribuye en ampollas. De cada 10-13 gr. de páncreas se obtiene una unidad de insulina. Posteriormente se han propuesto otros métodos de extracción que dan un rendimiento más abundante: ALLEN, PIPER, KIMBAL y MURLIN (1), CLOUGH y MURLIN (2); el de BEST y SCOTT (3) está descrito de un modo particularmente detallado. Todos dan un preparado sumamente activo, exento de proteínas, de lipoides y de sales.

Mientras que la mayoría han partido para preparar la insulina del páncreas de cerdo, de carnero y de ternera, JACKSON y MACLEOD (4) reanudando las observaciones y tentativas de RENNIE y de DIAMARE, la han extraído con éxito de los islotes de Langerhans de los teleósteos: así, dada la separación anatómica en aquellos peces de las ínsulas y el tejido acínico, pudo demostrarse irrefutablemente que la hormona anti-hiperglucémica es verdadera y exclusivamente de origen insular.

Sucesivamente BEST, SCOTT y BANTING (5) han encontrado insulina en el hígado, en el timo, en el bazo, en el tiroides, en las glándulas salivales y en la sangre, pero siempre en cantidad inferior a la que se encuentra en el páncreas. También existe en la orina normal, y más en la de mujer embarazada que en la de no embarazada y que en el hombre. La orina de los diabéticos no contiene insulina. COLLIP (6) ha encontrado después substancias de acción fisiológica semejante a la insulina en las levaduras y en varios tejidos vegetales; les llama «Glicoquinina» y revelan una acción hipoglucémica aguda y crónica en el conejo, esta última transmisible por el suero de conejo a conejo durante muchos pasos. Un perro pancrectomizado siguió viviendo durante 66 días con 3 inyecciones de glicoquinina extraída de las cebollas, que serían particularmente ricas en esta substancia.

La insulina es un polvo blanco, soluble en agua a la cual comunica un color amarillento; es soluble en alcohol de 80° pero no en alcohol de 95° o absoluto.

En solución ligeramente ácida soporta durante 30 minutos la temperatura del baño maría hirviendo sin perder la actividad fisiológica; en cambio la ebullición directa la inactiva en 3 minutos. No es dializable, pero lo que queda en el dializador es menos activo que la solución original; la filtración a través de bujías de Berkefeld también la debilita. Es adsorbible por el kaolín y el carbón animal. La tripsina y la pepsina la destruyen. También el agua oxigenada y el permanganato potásico la destruyen rápidamente. Los preparados más purificados contienen un 14 % de N y no contienen P. Dan una débil reacción de MILLON, y claramente la del biuret. La insulina es levógira. Es precipitada en solución acuosa por una ligera acidificación; y precisamente precipita en un punto isoeléctrico que es pH = 5 precipita también semisaturando el líquido con sulfato amónico, como las globulinas. *En el fondo, tiene substancialmente los caracteres de una albumosa.* DUDLEY (1) ha llegado a una purificación ulterior de la insulina en bruto, y prepara un clorhidrato de insulina activísimo. La insulina parece, pues, que es un cuerpo bastante complejo, proteinosímil, algo así como un polipéptido especial, a no ser que sea un cuerpo menos complejo e íntimamente asociado con albumosas (2).

(1) *Proc. Soc. for exper. biol. a. Med.*, vol. XX, pág. 519, 1923.
(2) *Id.*, pág. 417.
(3) *Journ. of biol. Chem.*, vol. LVII, n.° 3, 1923.
(4) *Journ. of metabolic. research.*, II, 1922.
(5) *Journ. Amer. med. Assoc.*, vol. LXXXI, pág. 382, 1923.
(6) *Journ. of biol. Chem.*, vol. LVII, pág. 65, 1923.

La acción biológica de la insulina fué reconocida por BANTING y sus colaboradores, y consiste para el diabético (perro pancrectomizado u hombre enfermo) en un descenso de la concentración de la glucosa en la sangre (índice glucémico), disminución o desaparición de la glucosuria, disminución de la acetonemia y de la acetonuria. Bien pronto observaron (3) que la inyección de insulina bajo la piel disminuía en el animal normal la cantidad de glucosa de la sangre en las horas sucesivas: en un cuarto de hora o en media hora se observa una reducción de la glucemia normal (reacción hipoglucémica) que se acentúa y dura más o menos según la dosis de insulina y las condiciones del animal. Los animales desnutridos o empobrecidos en glucógeno, con trabajo muscular intenso, dan una reacción hipoglucémica más fuerte a igualdad de dosis (4). El conejo es el animal de opción para dosificar la acción de la insulina: se llama *unidad de insulina* la tercera parte del material que reduce el azúcar de la sangre de un conejo (de 2 kg. de peso y en ayunas desde 24 horas antes) desde la cantidad normal (0,118 %) a 0,045 % durante un período de 5 horas (5). COLLIP ha obtenido insulinas con preparados de moluscos y de vegetales que actúan con retraso y dan hipoglucemia después de 1-4 días, quizá porque, en vez de contener el principio activo, poseen la substancia madre de éste que debe liberarlo en el organismo.

La insulina atenúa o hace desaparecer todas las hiperglucemias: la diabética natural, la de la pancrectomía, la del éter, del CO, de la asfixia, de la punción del cuarto ventrículo, de la adrenalina, etc.

La hipoglucemia no transcurre de una manera silenciosa si desciende a cosa de la mitad del contenido normal de glucosa o a menos; en el conejo se presenta sed y hambre intensa, luego hiperexcitabilidad neuromuscular, tendencia a agacharse, después ataques de convulsiones clónicas que aparecen bruscamente y se repiten cada vez con mayor

(1) *Bioch. Journ.*, vol. XVII, 1923.
(2) Acerca de la composición química se encontrarán datos en: SHONLE y WALDO, *Journ. of biol. Chem.*, vol. LVIII pág. 731. 1924.
(3) *Amer. Journ. of Physiol.*, vol. LXII 1922.
(4) MC. CORNICK, MACLEOD ecc., *Amer. Journ. of Physiol.* vol. LXIII, 1923.
(5) BEST y SCOTT, *Journ. of biol. Chem.*, vol. LVII, pág. 720.

frecuencia y por fin, si no se interviene, la muerte. La intervención terapéutica que actúa milagrosamente es la administración de glucosa por cualquier vía, pero mejor por las venas. También la adrenalina tiene acción curativa en la reacción hipoglucémica grave. Parece que el hígado y los músculos de los conejos muertos por hipoglucemia aguda debida a la insulina son pobres en glucógeno (1); por el contrario, se encuentra aumentado el glucógeno en el hígado y en los músculos de los animales y hombres con diabetes pancreática inmediatamente después de la cura con insulina. Parece, pues, que la insulina tiende a hacer desaparecer el glucógeno de los depósitos en el organismo normal y, por el contrario, a hacerlo aparecer o a aumentarlo en los depósitos depauperados del organismo diabético. La lipemia diabética se atenúa también. El cociente respiratorio se eleva por la acción de la insulina, quizá también porque los hidrados de carbono son metabolizados en mayor cantidad; pero la explicación no es tan sencilla y así GEELMUYDEN (2) da especial importancia a la reducción y al cese de la formación de azúcar a expensas de las grasas, como sucedería en la diabetes. Hemos dicho ya que la insulina produce una pronta reducción de los acidosis y de la acetonemia en el diabético; hasta parece que en los diabéticos graves con coma precede al descenso de la hiperglucemia; de un modo correlativo crece el poder fijador de la sangre para el CO_2 y aumenta el contenido en CO_2 del aire alveolar, como expresión de la reducción de los ácidos orgánicos (cetoácidos, oxiácidos) de la sangre. Según FEYERTAG la insulina no modifica el metabolismo basal de los diabéticos (3). Hay un claro antagonismo entre la adrenalina y la insulina: en efecto aquélla produce hiperglucemia, y ésta la atenúa. También la pituitrina (extracto de la lámina intermedia de la hipófisis) y la tiroxina de KENDALL (hormona tiroidea) son, a lo que parece, antagonistas de la insulina.

El estudio de la insulina ha permitido la demostración exacta de la absoluta necesidad para la vida de un índice glucémico mínimo, y ha hecho conocer una serie de trastornos, que llegan hasta las convulsiones y el coma, expresión de un *déficit* de glucosa en la sangre. Probablemente la glucosa es un combustible fácilmente utilizable, del cual no pueden prescindir las células para el desarrollo regular de sus actividades funcionales. El *déficit* de glucosa quizá actúa ocasionando una parálisis de las oxidaciones intraorgánicas, y en realidad la rapidez con que se produce la disminución del índice glucémico y algunos otros síntomas del síndrome tal vez recuerdan un poco la intoxicación por el ácido cianhídrico y los cianuros que, como sabemos, son paralizantes de las oxidaciones intraorgánicas.

La insulina representa una brillante conquista práctica. En la actualidad los médicos americanos, ingleses y alemanes cuentan con

(1) DUDLEY y MARRIAN, *Biochem. Journ.*, vol. XVII, pág. 435, 1923; STAUB, *Klin. Woch.*, 1923, n.° 45 y 46.
(2) *Klin. Woch.*, 1923, n.° 36.
(3) *Id.*, 1924, n.° 1.

numerosos casos de diabéticos curados con éxito por medio de la insulina, y buena experiencia se está haciendo ya en Italia (1). También en el hombre es necesario prevenirse contra el peligro de la reacción hipoglucémica y tener siempre a mano una solución de glucosa al 30 % para inyectarla en caso necesario, así como inyectables de adrenalina. Se aconseja la administración de 20-30 unidades al día (en dos o tres inyecciones subcutáneas de 10 unidades cada una); rara vez 40 o más en los casos de diabetes gravísima (2). Se recomienda practicar las dos o tres inyecciones antes de las comidas, para asegurar la asimilación de los hidratos de carbono introducidos (3). No debe abandonarse el tratamiento dietético ordinario, sino establecer una relación favorable entre la dieta y las dosis de insulina: los autores americanos dan con este objeto unas fórmulas tan complicadas como inútiles. No se obtiene una reducción permanente de la hiperglucemia; con frecuencia el índice glucémico vuelve a subir por la noche. De todos modos prolongando la cura, el organismo utiliza mejor los hidratos de carbono, reduce sorprendentemente la acetonuria y las condiciones generales mejoran; después pueden disminuirse las dosis o hasta intercalar breves períodos de suspensión de las inyecciones. Según v. NOORDEN e ISAAC (4) los individuos jóvenes son más sensibles al tratamiento, y más refractarios los de más de 50 años, en los cuales a veces no se consigue nunca privar de azúcar a la orina; nos parece que quizá se debe esto al hecho de que los diabéticos jóvenes son más frecuentemente diabéticos pancreáticos puros, mientras que en las edades avanzadas hay un trastorno endocrino más complejo, menos exclusivamente dominado por la insuficiencia del páncreas. Frecuentemente es maravillosa la acción de una o dos inyecciones de insulina en el coma diabético. En resumen: la insulina no es un remedio causal para la diabetes, sino sólo un coadyuvante poderoso de la cura dietética.

El *mecanismo de acción* de la insulina es aun muy oscuro. La insulina no tiene ninguna acción glucolítica *in vitro*, por lo tanto, no tiene nada que ver con el fermento glucolítico descrito por LÉPINE en la sangre y en muchos órganos. Muchos son los que no creen que la insulina haga aumentar, de una manera primitiva y directa, las combustiones del azúcar en los tejidos; el aumento del C. R., ya citado, tiene una explicación un poco compleja y, por lo demás, una hipoglucemia acentuada, tal como la producida por la insulina, no se observa, como hace notar atinadamente STAUB, ni siquiera en los trabajos musculares

(1) Lo mismo podemos decir para España, donde la preparación *(González*, Laboratorio Munic. de Barcelona), y el tratamiento por la insulina han tomado, desde ya hace tiempo carta de naturaleza. *N. del T.*
(2) La cuestión de la dosificación no está aún definida. Es, pues, conveniente atenerse para cada preparado a las indicaciones precisas de la casa productora, comenzar su uso por pequeñas dosis y adquirir una buena práctica personal antes de aumentarlas.
(3) Véase NOORDEN e ISAAC, *Klin. Woch.*, 1923, n.° 43.
(4) Obra citada.

más intensos, los cuales significan verdaderamente un aumento de las combustiones de hidratos de carbono, que son el combustible que el músculo utiliza directamente. No está bien clara la manera como obra la insulina en la polimerización de la glucosa y del glucógeno, y tampoco parece que la hipoglucemia producida por la insulina se explique por un aumento de la fijación de la glucosa en el hígado y en los músculos en forma de glucógeno. Según los autores americanos, en el perro diabético y en la diabetes humana la insulina produciría ciertamente un aumento de glucógeno en el hígado, y por lo tanto facilitaría el almacenamiento de los hidratos de carbono; pero en el animal normal parece que, por el contrario, tiene efectos opuestos y disminuye las reservas de glucógeno (1). WINTER y SMITH (2) creen que la insulina provoca la transformación de las variedades estables α y β de glucosa en γ-glucosa, la única forma aprovechable por el organismo, o sea la única *inestable*, que debería representar la forma normal del azúcar en la sangre: según estos autores en la diabetes toda la glucosa se hallaría en las dos formas estables y esto explicaría la impotencia del organismo diabético para quemar el azúcar con la ayuda de la insulina. Es necesario, sin embargo, hacer notar que DENIS y HUME (3) no confirman la existencia de esta γ-glucosa en la sangre normal. GEELMUYDEN (4) cree que la insulina u hormona pancreática es el antagonista normal de la adrenalina, y que ambas influencian en sentido opuesto la formación y fijación, pero no el consumo, del azúcar. La insulina retardaría e inhibiría la transformación de las grasas en hidratos de carbono: en la diabetes habría un aumento de la formación de azúcar a expensas de las grasas (y de las proteínas) de donde provendría el bajo C. R.; con la insulina se conseguiría detener esta orientación del metabolismo o hasta hacerla desaparecer y lograr que se formasen grasas a partir de los hidratos de carbono, como lo demostraría el hecho de que el C. R. puede llegar a más de la unidad. LAUFBERGER (5) aduce algunos argumentos en favor de una opinión parecida: según sus cálculos, tanto el azúcar circulante como el glucógeno depositado sólo bastarían durante poco más de dos horas para el consumo de los órganos, los cuales solamente pueden recurrir para las actividades energéticas a la combustión de los hidratos de carbono. Es, por lo tanto, indispensable una formación continua de glucosa a expensas de las grasas, y sería función de la hormona pancreática moderar esta transformación necesaria y continua. En la diabetes existiría un *exceso* de esta misma transformación de las grasas (y proteínas) en hidratos de carbono; la acción curativa de la insulina consistiría en el bloqueo de esta fase metabólica que en el diabético rebasa los límites normales, así como la acción hipoglucemiante en el sano sería debida a

(1) Mc. CORNICK y O'BRIEN, *Journ. of Physiol.*, vol. LVII, 1923.
(2) *Journ. of biol. Chem.*, vol. LVII, 1923.
(3) *Id.*, vol. LX, pág. 603, 1924.
(4) *Klin. Woch.*, 1923, n.° 36; *Ergebn. der Physiol.*, vol. XXI.
(5) *Klin. Woch.*, 1924, n.° 7.

la misma causa, a que detendría la formación de hidratos de carbono a expensas de las grasas. Pero otras investigaciones parecen probar que en vez o además de la acción de la insulina sobre los órganos centrales que dominan el metabolismo de los hidratos de carbono (y de las grasas?), tales como el hígado, existe también una acción periférica: así AHLGREN (1) ha observado que por efecto de la insulina los tejidos reducen más activamente el azul de metileno en presencia de glucosa, como si la insulina ayudase a los tejidos a escindir la glucosa en productos fácilmente oxidables (deshidrogenables). NEUBERG, GOTTSCHALK y STRAUSS (2) han hecho luego el importante descubrimiento de que en los tejidos (papilla de hígado) se forma por la acción de la insulina mucho más acetaldehido que normalmente: ahora bien, el aldehido acético es un producto de descomposición de los azúcares, y esta observación hablaría en favor de un aumento de la glucolisis en los órganos *(in vitro)* por acción de la insulina, la cual era negada al principio.

Como se ve, el problema no está aun resulto, y todavía se presenta en forma bastante oscura.

Actualmente la discrepancia de opiniones sobre el mecanismo de acción de la insulina va reduciéndose, al ir cada día ganando terreno el convencimiento de que la insulina obra tanto favoreciendo la fijación del azúcar en forma de glucógeno en el hígado y en los músculos (glucógenosíntesis), como activando la combustión del azúcar en los tejidos (glucolisis). En realidad, como se desprende del análisis crítico que hace Quagliariello (3) del material experimental actualmente existente, la insulina facilita la formación de glucógeno, *siempre* que haya cantidad suficiente disponible de glucosa en el organismo: en el individuo (hombre o animal) diabético, esto es evidente; en el animal normal el aumento de glucógeno no aparece naturalmente, porque no hay suficiente azúcar disponible y predominan los fenómenos de glucolisis que producen la conocida hipoglucemia, en compensación parcial de la cual el glucógeno hepático es movilizado mediante la transformación en azúcar.

Pero *también en el animal normal* se comprueba una glucógenosíntesis, si al mismo tiempo que la insulina se administra glucosa en cantidad suficiente para anular el peligro de una hipoglucemia. Por lo tanto, parece cierta una influencia sobre la formación del glucógeno y, por lo tanto, sobre la asimilación de los hidratos de carbono. Pero todavía más cierta, según datos actualmente concordes y numerosos, es la influencia sobre los fenómenos de combustión de la glucosa; esto, además de las observaciones citadas, queda demostrado por otras más recientes. También LESSER (4) reanuda las experiencias de DALE

(1) *Skandin. Arch. f. Phys.*, vol. XLIV, 1923.
(2) *Deutsch. med. Woch.*, 1923, pág. 1407.
(3) *Arch. di Scienze biol.*, vol. IX, n.° 3-4, 1927.
(4) *Krankeitsforsch.*, vol. II, n.° 6, 1926.

y sus colaboradores (1) sobre los gatos decapitados y eviscerados. En este caso se trata de preparados orgánicos, reducidos solamente al sistema circulatorio, a los pulmones, a la piel y a los músculos. En estos organismos así mutilados la insulina produce siempre una hipoglucemia: esto demuestra, en efecto, que su punto de acción no es solamente central, en el hígado, sino también periférico y casi seguramente *en los músculos*. Además, se observa en estos preparados que el consumo de O_2 crece en proporción a la insulina inyectada y esto no puede depender más que de la combustión de la glucosa inyectada simultáneamente. El cociente respiratorio es y se mantiene igual a la unidad, lo cual excluye que la glucosa se transforme en grasa durante la operación. Por lo tanto, se quema un exceso de glucosa por efecto de la insulina, pero no se quema toda, porque una parte se deposita en forma de glucógeno. Actualmente, que conocemos la importancia de las relaciones íntimas entre combustión del azúcar y su síntesis en glucógeno, admitiéndose con MEYERHOF que no es posible la síntesis de glucógeno sin que la combustión de otra porción de este hidrato de carbono proporcione la energía necesaria (en el músculo y en otras células) para la síntesis, formando una verdadera *reacción acoplada*, podemos pensar que la insulina va engranada a este proceso, que se conoce con el nombre de *ciclo de Meyerhof* (véase también a propósito de la química del músculo así como el párrafo precedente): la insulina, activando la combustión de la glucosa, esto es, la reacción que proporciona la energía para la resíntesis de los hidratos de carbono, viene a facilitar de este modo la formación del glucógeno en el hígado y en los músculos. Estos últimos deben considerarse probablemente como un asiento importante de la hormona insulínica y, por lo tanto, también de la afección diabética.

Una concepción un poco especial acerca de la acción insulínica y acerca de la génesis de la diabetes, es la desarrollada por HAÜSLER y LÖWI (2), RONA y SPERLINH (3) y FALTA (4). Estos autores hacen resaltar el hecho, según ellos fundamental, de que cuando se inyecta glucosa a un organismo, desaparece demasiado pronto para que pueda ser almacenada inmediatamente o quemada; debe ser, en un primer tiempo, fijada por las células y la fijación es el primer acto indispensable para la combustión o para la síntesis.

La hormona insulínica facilita esta fijación: si se ponen glucosa en presencia de una suspensión de células en un líquido fisiológico, la insulina favorece la penetración de la glucosa en las células, o sea, modifica la repartición del azúcar entre líquido y células a favor de las células.

Parece, según EMBDEN, que la adrenalina disminuye la permeabilidad del músculo para la glucosa; la insulina tendría una acción

(1) *Proc. Royal Soc. B.* Vol. C, pág. 55, 1926.
(2) *Pflüger's Arch.* Vol. CCX, n.° 1-3, 1925.
(3) *Bioch. Zeitschr.* Vol. CLXXV, 1926.
(4) *Klin. Woch.*, 1927, n.° 18.

opuesta, aumentando la permeabilidad de las células para el azúcar. En la diabetes, por defecto de hormona insulínica, estaría disminuída la capacidad de las células para dejarse compenetrar por el azúcar, o estaría aumentada (para la célula hepática) la facilidad para dejar salir el azúcar; en otros términos: en la diabetes parece que está reducida la *avidez* de todas las células para la glucosa que, por lo tanto, sería peor almacenada o quemada (teoría de la *avidez* de FALTA).

La glucosuria en el embarazo. — En el embarazo parece existir, según algunos, un descenso del límite de tolerancia para el azúcar, y hasta una mayor facilidad para la movilización de los hidratos de carbono (mayor y más fácil glucosuria adrenalínica): además también parece haber una mayor sensibilidad a la floridcina, que produciría glucosuria con más facilidad que normalmente. En esta *disposición glucosúrica* de las embarazadas, se fundan las siguientes pruebas clínicas, que deberían contribuir a formular el diagnóstico de embarazo:

1.ª La de FRANK y NOTHMANN (1) que consiste en dar 100 gr. de glucosa, *per os*, en ayunas y comprobar la glucosuria que aparecería (por supuesto, excluyendo las formas diabéticas) solamente en la embarazada: es de advertir que no habría hiperglicemia o ésta sería escasa según los autores citados, por lo cual la prueba revelaría una especie de diabetes *renal* latente. HELLMUTH (2) ha dado también cierto valor relativo a la prueba (solamente 5 glucosurias entre 115 mujeres no embarazadas).

2.ª La prueba con la suprarrenina (o adrenalina) de ROUBITSCHEK (3), en la cual se dan *per os* 10 gr. de glucosa y luego se inyecta 0,5 cc. de suparrrenina al 1 : 1000.

3.ª La prueba de la floridcina, de KAMNITZER, en la cual se inyectan 2-2,5 mgr. de floridcina bajo la piel. Sin embargo estas dos últimas pruebas tienen poco valor (4).

Pero la cuestión de si en el *embarazo fisiológico* existe una insuficiencia hepática latente o bien un aumento de la permeabilidad renal para el azúcar de la sangre es bastante compleja: mientras SCHIROKAUER (5) habría conseguido encontrar exaltadas las funciones glucolíticas hepáticas, otros consideran como frecuente la glucosuria alimenticia, KELLER observó levulosuria. ABDERHALDEN y FODOR encuentran frecuentemente un aumento de los aminoácidos en la orina (reducción de la función desaminante del hígado), y otros investigadores han hallado urobilinuria, bilirrubinuria frecuente, aparición de la hemoclasia digestiva según WIDAL, etc., como resultado de un ligero hipohepatismo. En el reciente trabajo de HETENYI y LIEPMANN (6) se encuen-

(1) *Münchn. med. Woch.*, 1920, n.° 50.
(2) *Klin. Woch.*, 1922, n.° 23.
(3) *Id.*, 1922, n.° 5.
(4) Véae HELLMUTH, loc. cit.
(5) *Berl. klin. Woch.*, 1912, pág. 500.
(6) *Klin. Woch.*, 1922, n.° 24.

tran recogidos muchos datos. Estos autores llegan a la conclusión que fisiológicamente no existe en el embarazo una verdadera inferioridad funcional del hígado: en el 100 % de las embarazadas se provoca levulosuria dando 100 gr. de levulosa *per os* en ayunas, pero esto dependería de un aumento de la permeabilidad renal para el azúcar, y la levulosuria sería, como dicen HETENYI y LIEPMANN, anahepatógena: no se podría demostrar con claridad la existencia de una insuficiencia funcional del hígado, por lo menos en lo referente al metabolismo de los hidratos de carbono. Lo único evidentemente cierto es la existencia de lo que hemos llamado disposición glucosúrica, pero no se sabe con seguridad cuál es el asiento de la modificación funcional que la determina, aun cuando la mayoría de autores tienden a admitir un origen renal (glucosuria sin hiperglucemia o por hiperglucemia fisiológica; véase también pág. 571).

Otras hidraturias. — Pueden existir, aunque no son frecuentes, algunos trastornos, generalmente sin grave significado, del metabolismo de los hidratos de carbono que determinan la eliminación por la orina de diversos hidratos de carbono distintos de la glucosa. Hay que separarlos bien de las varias hidraturias ya citadas, que a veces *acompañan* a la diabetes mellitus.

La *lactosuria* es la más frecuente de estas anomalías del metabolismo: se observa en las mujeres lactantes y es debida a la reabsorción de la lactosa de las mamas. Se observan cifras de 0,3-0,5 % de lactosa en la orina, rara vez más (hasta 4 %). Adviértase que las puérperas tienen casi siempre, en comparación con los individuos fuera de este estado, una menor tolerancia hasta para la lactosa administrada por la boca. La lactosa no fermenta, y esto puede servir de norma para su distinción con la glucosa.

La *levulosuria* es rara fuera de la diabetes; algunos la llaman diabetes levulósica. Se sabe poco sobre este particular (1).

La *eliminación de ácido glucurónico* se verifica generalmente en forma de ésteres de este ácido con substancias aromáticas exógenas o endógenas (productos putrefactivos intestinales); representa la aplicación de un verdadero mecanismo de desintoxicación por síntesis *(síntesis defensiva)*. En este caso la orina reduce después de la ebullición con ácidos (H_2SO_4 1 %) *con lo cual se libera el ácido glucurónico de las uniones estéreas;* en efecto, solamente es el grupo aldehídico del ácido glucurónico el que reduce, y precisamente este grupo es el que está ocupado por las combinaciones citadas. Si se practican las pruebas corrientes de reducción para el azúcar calentado durante largo

(1) En las levulosurias *puras* descritas hasta ahora hay a veces pequeños signos parecidos a los diabéticos (sed, cansancio, una cierta poliuria). La eliminación del azúcar se presenta generalmente después de la administración oral de hidratos de carbono y especialmente de levulosa. En el caso de NEUBAUER *(Münchn. med. Woch.,* 1905) siempre pasaba a la orina una fracción constante de la levulosa ingerida, fuese cual fuese la cantidad administrada: no existía, por lo tanto, como en la diabetes por la glucosa un límite preciso de tolerancia. La orina de los levulosúricos fermenta, reduce y es *levógira;* da la *reacción de Seliwanoff* (pág. 47).

tiempo, puede obtenerse una reducción lenta por parte de la orina no tratada precedentemente con ácidos, porque la escisión de los compuestos citados se realiza, con lentitud, hasta en presencia de los álcalis de los líquidos de TROMMER, FEHLING, NYLANDER, etc. Se sospechará, por lo tanto, la presencia de abundantes productos de acoplamiento del ácido glucurónico, cuando la orina reduzca *lentamente* o sólo *después de la ebullición con ácidos;* la reacción con la fenilhidracina sólo se obtiene después de esta ebullición. Estas orinas *no fermentan* o, cuando hay presencia simultánea de glucosa, fermentan menos de lo que correspondería al poder reductor; *son levógiras,* pero después de la ebullición con ácidos se vuelven dextrógiras (el ácido glucurónico es dextrógiro, y sus compuestos, levógiros); dan la reacción de la orceína solamente después de la ebullición (1).

La anomalía mejor estudiada es la *pentosuria;* ésta, según la opinión corriente, no tiene significado patológico propiamente dicho, puede existir durante años y muchas veces es hereditaria. La orina reduce (lo que atrae la atención del médico) pero de una manera un poco especial: bruscamente, pero después de ebullición prolongada; no fermenta ni desvía la luz polarizada porque la pentosa eliminada es una arabinosa racémica. No parece que la pentona sea de origen alimenticio, sino que se forma en el metabolismo intermedio por un mecanismo desconocido (quizá de la galactosa, que en el cuerpo puede derivar a su vez de la glucosa; tal vez de pentosas de los núcleoproteidos).

Alguna vez, aunque rara, la pentosa eliminada ha sido reconocida como d-xilosa (que puede formarse en la putrefacción del ácido glucurónico por pérdida de CO_2 y que quizá podría tener un origen semejante en el vivo). LUZZATTO (2) describe en un caso de pentosuria, una arabinosa ópticamente activa en vez de la forma racémica habitual.

También después del uso de ciertas frutas puede aparecer en la orina una pentosa difundida en el reino vegetal, la l-arabinosa dextrógira (llamada sin embargo l-arabinosa por sus relaciones estereoquímicas con los l-azúcares). Pero, también según las investigaciones de Luz-

(1) La reacción más conocida del ácido glucurónico, que permitiría su distinción fácil con las pentosas, es la de TOLLENS y RORIVE ya citada en la página 54, que se practica de la manera siguiente: 5-6 cc. de orina fresca se colocan en un tubo con un volumen igual de HCl y 1 cc. de solución alcohólica de naftoresorcina al 1 %. Se calienta, primero suavemente y luego con más intensidad hasta hacerla hervir durante 1 minuto; se deja enfriar durante 4 minutos y luego se acaba de enfriar bajo el grifo. Añádase éter y agítese: el éter toma color rojo, azul o pardo-rojizo si hay ácido glucurónico (en el espectroscopio aparece una banda entre el amarillo y el verde, un poco a la derecha de la D). NEUBERG hizo varias objeciones a esta reacción. Existen otros métodos para investigar el ácido glucurónico en la orina: uno de ellos es el del α-naftol (GOLDSCHMIEDT, *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. LXV-LVXII), del cual es digna de ser mencionada la modificación de SABATINI *(Policlínico,* Sez. Med., 1920.

(2) *Zeitschr. f. d. ges. Bioch.*, VI, 1904.

ZATTO (1), la mayor parte de pentosurias no son de origen alimenticio sino endógeno (2).

d) Acción farmacológica de los azúcares.

La acción de los azúcares ha sido estudiada también desde el punto de vista que podríamos llamar farmacológico; se han estudiado sus propiedades diuréticas, galactogogas, cardiotónicas, etc. ALBERTONI realizó desde 1881 una serie de investigaciones sobre este asunto (3); sobre todo puso en evidencia el aumento de la presión sanguínea subsiguiente a las inyecciones intravenosas de glucosa y sacarosa, el aumento de la velocidad circulatoria, el aumento de la frecuencia del pulso y el aumento de volumen de los órganos. ALBERTONI llegó a la interesante conclusión de que los azúcares no deben ser considerados solamente como alimentos, sino también como agentes que modifican el estado funcional del sistema circulatorio. LOCKE demostró más tarde (4) la evidente mejoría del funcionamieno del corazón aislado irrigado con líquido de Ringer al cual se había añadido glucosa. También SCHIASSI (5) estudió el hecho, interesante en sí, de que substancias que llegan en abundancia con los alimentos tienen también una acción hemodinámica acentuada si son introducidas directamente en las venas: he aquí una de las bases para la aplicación clínica de las inyecciones de soluciones azucaradas (en las cardiopatías, infecciones graves, como diuréticos, etc.). Sobre todo LO MONACO (6) ha estudiado la influencia de las inyecciones de azúcar por vía parenteral sobre algunas funciones, como por ejemplo sobre varias secreciones obteniendo (como también SAMMARTINO) (7) un aumento de éstas con dosis pequeñas y disminución con dosis fuertes. También variaría según las dosis la acción sobre los vasos (SAMMARTINO). LO MONACO

(1) *Arch. d. Farmacia sperim. e Scienze affini*, vol. I, 1902.
(2) Para las reacciones de las pentosas véase página 53. La prueba de la orceína parece a muchos la más a propósito para la orina: SALKOWSKI aconseja hacerla calentando 3 cc. de orina con un volumen doble de HCl fumante y un grano de orceína, cuidando de no prolongar demasiado el calentamiento, para evitar que se desdoblen los ésteres del ácido glucurónico y la liberación de este ácido, que da una reacción análoga. Se obtiene una coloración roja, y después verde; se hace enfriar, se agita con alcohol amílico que da un hermoso color verde; el examen espectroscópico puede completar la investigación. Es útil decolorar previamente la orina con carbón animal. Procúrese no filtrar demasiado tiempo o repetidas veces la orina por papel de filtro; el papel contiene pentosanas que pueden ser extraídas y hacer aparecer la reacción muy sensible; es muy útil el empleo de filtros de cristal (UMBER). El estudio exacto de las osazonas permte el diagnóstico preciso de la pentosa.
(3) *Arch. ital. de Biologia*, t. XV, pág. 321.
(4) *Centralbl. f. Physiol.*, vol. XIV y XV.
(5) *Arch. intern. d. Physiol.*, vol. XII, fasc. 4.°, 1912.
(6) *Arch. di Farmacia sper.*, vol. XVII.
(7) *Folia Gynaecologica*, vol. XIII, 1913; *Arch. di Farmacologia sperimentale*, vol. XIX, 1915.

ha estudiado también otras varias cuestiones interesantes referentes al efecto de la inyección parenteral de sacarosa, tales como la aparición de invertasas en la sangre (en perros normales y pancreotomizados) (1), y ha intentado dar aplicación terapéutica a la acción de los azúcares sobre la circulación, sobre el metabolismo y sobre las secreciones. Véanse sobre este tema los trabajos de CRISPOLTI (2).

(1) *Arch. di Farmacol. sper.*, vol. XIX, 1915.
(2) *Policlinico*, vol. XXII, Sez. Med., 1915.

CAPÍTULO IV

El metabolismo intermediario de las grasas y lipoides

a) Formación de las grasas.

El régimen alimenticio tiene una gran importancia para la constitución de las grasas de depósito: en efecto, si se tiene un perro en ayunas hasta que esté profundamente enflaquecido y entonces se le alimenta con poca carne y mucha grasa, rehace sus depósitos de grasa en tal medida que es forzoso admitir su origen en la grasa ingerida; no solamente sucede esto, sino que si la grasa alimenticia es una grasa con características especiales y por lo tanto fácil de reconocer en los tejidos, se encuentra precisamente aquella grasa en el tejido subcutáneo y en otros depósitos (músculos, médula ósea). Se han hecho experimentos de esta clase con aceite de lino, aceite de manteca de coco y grasas parecidas con un índice de hidrógeno y un punto de fusión claramente distintos de los de la grasa normal del cuerpo, y después de la ingestión de estos aceites se ha visto que las grasas del animal presentan las características de la grasa ingerida. Se puede considerar que la naturaleza de las grasas de la alimentación usual es la que determina los caracteres de las grasas de depósito, propios de cada especie animal. La grasa ocupa, por lo tanto, una posición especial: el organismo la almacena tal como la encuentra; no la asimila como hace con las proteínas, que solamente son admitidas a formar parte del cuerpo después de haber perdido la especificidad original, y hasta con los mismos hidratos de carbono que son transformados por completo en glucosa o en el producto de condensación de ésta, el glucógeno (y quizá hasta existe una variedad especial de glucosa, la γ, que representa la forma normal y dotada de histoafinidad, del hidrato de carbono circulante). Las *grasas de reserva* son las únicas que presentan esta dependencia respecto a la grasa alimenticia aunque no es del todo absoluta, porque, por ejemplo de la llamada esperma de ballena solamente se almacena el ácido palmítico en forma de ester glicérico, mientras que el alcohol cetílico desaparece, llegándose a encontrar el palmitato de etilo en los depósitos de reserva en forma de tripalmitina, por lo tanto como combinación glicérica del ácido graso.

En cambio, las grasas celulares, que forman parte del protoplasma vivo, tienen una notable constancia de composición para cada especie y para cada órgano; en este caso se trata especialmente de lipoides de gran valor funcional, y ya hemos dicho en la primera parte que cada órgano tiene probablemente sus lipoides específicos.

Las grasas de reserva o de depósito son más o menos abundantes según el estado de la nutrición: por término medio el hombre normal almacena por lo menos unas 50 000-90 000 calorías en forma de grasa y solamente 3000 calorías en forma de glucógeno. Se deben a Laufberger (1) los cálculos exactos sobre el valor relativo de las dos reservas energéticas, de la relativamente modesta, constituída por el glucógeno, y de la que está en forma de grasas, mucho más importante. Según Laufberger, un conejo que solamente puede disponer del glucógeno hepático y muscular que posee normalmente, no puede vivir más de un par de horas o poco más, y este argumento le sirve para sostener que si el animal puede permanecer mucho más tiempo sin alimento, se debe a la transformación de las grasas en azúcar y a su empleo en esta forma para las necesidades funcionales. El hombre, guiándonos por las cifras que hemos citado hace poco, podría mantener sus propios dispendios de energía durante un tiempo mucho mayor si solamente dispusiera de las reservas de hidratos de carbono; pero este período es relativamente corto en comparación con las posibilidades que ofrecen los depósitos adiposos. Gracias a las grasas puede sostenerse un ayuno de varios días.

Pero no debe creerse que se consume primero todo el glucógeno y *luego* las grasas: la reserva de hidratos de carbono representa el material de pronto e inmediato consumo, la moneda suelta que se guarda en el bolsillo en reserva modesta, pero siempre disponible, y que no debe nunca agotarse, so pena de graves daños para el organismo, que no puede reducir la cantidad de azúcar de la sangre, quizá porque solamente el azúcar representa el combustible directo, por lo menos para los músculos. La reserva de grasa es como el depósito en el banco, en títulos (la comparación es de Oppenheimer) que deben ser vendidos primero o cambiados para ser utilizados como especies corrientes: depósito enorme, pero que exige una conversión (grasas —> hidratos de carbono) para el uso y que, por lo tanto, para las necesidades cotidianas, no puede substituir a la provisión líquida. He aquí por qué el organismo en el ayuno y en varios estados morbosos utiliza primero una buena parte de sus hidratos de carbono, pero bien pronto ataca los grandes depósitos de grasa de utilización lenta, reservándose tanto tiempo como puede, hasta cuando las grasas están a punto de ser agotadas, un residuo de glucógeno para las necesidades extremas, tanto más cuanto que solamente el azúcar permite una liberación energética por vía anaerobia en el primer período de su desintegración (glucosa —> ácido láctico), y es indispensable para el organismo reservarse el re-

(1) *Klin. Woch.*, 1924, n.° 7.

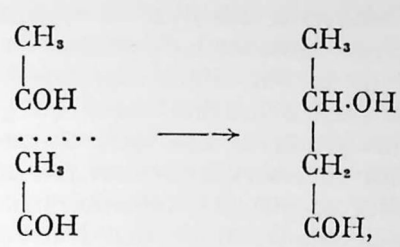
curso, aunque sea breve, de la vida anaerobia de sus tejidos, frente a la posibilidad de bruscas exigencias energéticas y de oxigenaciones temporalmente insuficientes.

Pero las grasas de reserva ¿proceden solamente de las grasas alimenticias? Sabemos con seguridad que pueden provenir ampliamente de los hidratos de carbono, por un verdadero proceso endotérmico de síntesis (se necesitan tres breves cadenas de 6 átomos de C de una hexosa para formar la cadena de 18 átomos de C del ácido esteárico) o de reducción, cuyo mecanismo es aún oscuro, pero que observamos todos los días si nos fijamos en el engorde de los animales domésticos por las harinas. Cuando el aporte alimenticio de hidratos de carbono rebasa un cierto límite y todos los depósitos de glucógeno están saturados, entonces el exceso de hidratos de carbono es almacenado bajo la forma más estable de grasa. Cuando se realiza esta transformación, por lo tanto, durante el engorde rápido (en las convalecencias, en las curas de cebamiento, etc.), el cociente respiratorio puede subir a más de la unidad : en efecto, en el proceso de condensación y reducción de los hidratos de carbono para convertirse en grasas se libera CO_2, que no corresponde al O_2 absorbido, porque la ecuación en sus términos extremos es la siguiente (según LAMBLING) :

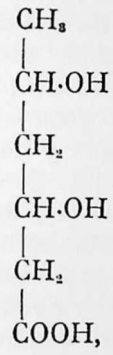
$$\underset{\text{Glucosa}}{13C_6H_{12}O_6} = \underset{\substack{\text{Oleoestearopal-}\\\text{mitina}}}{C_{55}H_{104}O_6} + 23CO_2 + 26H_2O.$$

Puede también decirse que en la reducción debe liberarse O_2 que sirve para las oxidaciones intraorgánicas, reduciendo así la cantidad necesaria de O_2 exterior, sin que esté reducida la formación de CO_2.

En el capítulo VIII, de la sección precedente hemos indicado que la transformación puede tener lugar por sucesivas hidrogenaciones y deshidrataciones, según la teoría de WIELAND. En otro lugar hemos dicho (pág. 234) que en la carboligasa de NEUBERG hay una enzima capaz de operar la unión de cadenas cortas para formar cadenas largas de carbono. En el capítulo precedente hemos tratado de la reacción inversa, del paso de las grasas a hidratos de carbono y de sus posibles vías ; en el esquema de la página 566 hemos señalado el punto en que el metabolismo de las grasas engrana con el de los hidratos de carbono ; así también se ha visto cómo del acetaldehido (procedente de la escisión de la glucosa) podría formarse ácido acético por condensación de dos moléculas, o sea un ácido graso (un cetoácido). NEUBERG, en sus estudios sobre la fermentación, ha notado la aparición de ácidos grasos superiores, el caprílico y el caprínico. Son hechos un poco desligados, pero que contribuyen a hacer entrever el mecanismo de esta transformación : el azúcar se rompe en cadenas más cortas, y con estos productos de desintegración del azúcar (aldehido acético, aldehido pirúvico, ácido pirúvico) se construye la larga cadena del ácido graso. KNOOP (véase más adelante) imagina que el azúcar llega al estado de aldehido acético, y entonces se verifica la condensación de dos moléculas de éste con formación de aldehido β-oxibutírico :



seguida de una nueva condensación con más aldehido acético, por la cual se obtendría una cadena de 6 átomos de C hidroxilada en las posiciones β y δ :



y así sucesivamente se formarían cadenas de 8-10-12..... átomos de C. Después, una acción reductora haría desaparecer los hidroxilos, y se obtendrían ácidos grasos con un número par de átomos de C, como siempre sucede en el organismo (hasta en la leche).

En realidad, la circulación de acetaldehido por el hígado hace aparecer ácidos acetacético y β-oxibutírico, y el reciente descubrimiento (página 565) del acetaldehido en los tejidos de los mamíferos hace cada vez más verosímil la importancia de éste en las transformaciones intraorgánicas.

Mucho menos cierta para los fisiólogos es la conversión de las proteínas en grasas y el origen de la grasa a expensas de las proteínas ; parece innegable un origen indirecto, si se admite que las proteínas producen azúcar y la transformación consecutiva del azúcar en grasa. Pero lo que se discute es la transformación directa. Químicamente no tendría nada de imposible que los aminoácidos, los bloques constructivos del edificio proteico, una vez desaminados y transformados en ácidos grasos entrasen en el metabolismo de éstos, se condensasen, por ejemplo, en ácidos grasos superiores, y se combinasen luego con glicerina o colesterina. Está comprobado que ciertos organismos inferiores, las bacterias, realizan la conversión de los aminoácidos en ácidos grasos ; efectivamente, se forman ácidos grasos por desamina-

ción en el proceso de putrefacción, y hasta pueden aparecer en este caso ácidos grasos, superiores, como cuando se forma la *adipocira* (palmitato de Ca) en los cadáveres. Pero en los experimentos en animales superiores, la acción engordante de las proteínas es muy escasa (debida quizá a la longitud de la vía citada: proteínas → hidratos de carbono → grasa), y no existen pruebas seguras, según PFLÜGER y casi todos los fisiólogos modernos, de una clara transformación *directa* de las proteínas ingeridas en reservas de material ternario distinto del glucógeno. Los patólogos, por el contrario, han sostenido durante mucho tiempo la posibilidad real de una transformación de los materiales albuminoides del protoplasma en grasas neutras, ésteres colesterínicos y lipoides, en la llamada *degeneración grasienta* según las ideas de VIRCHOW, tal como se observa en ciertas influencias tóxicas (P, As, venenos bacterianos) en la hipertermia y en la reducción del aporte de oxígeno a los tejidos. Es una antigua cuestión muy debatida, si en estos casos se puede hablar verdaderamente de degeneración grasienta o, al contrario, de *infiltración grasosa*, si se niega la transformación de las proteínas en grasa. Entretanto, será conveniente emplear una terminología ambigua y hablar de *adiposis celular*; pero, ¿qué debe pensarse de la naturaleza de este fenómeno que no es raro? Las experiencias de ROSENFELD (1), de LEBEDEFF, de CAVAZZA (2) — los cuales han alimentado animales con grasas especiales bien reconocibles en comparación con la grasa normal de la especie, o, como el último autor, con grasa teñida con Sudan III, y han encontrado luego, intoxicando con fósforo el animal, que la grasa del hígado en estado de adiposis era la misma grasa alimenticia — demostrarían que, en estos casos, la adiposis de las células hepáticas es de origen infiltrativo y no degenerativo. Además, se ha visto que el grado de adiposis del hígado está generalmente en proporción con la riqueza de las reservas grasas del animal: animales flaquísimos, envenenados con P, no presentan más que un cuadro de ligera adiposis del hígado. Viceversa, serían decisivas para el origen degenerativo las experiencias de MAVRAKIS (3), quien habría visto aparecer las características gotitas de grasa en el hígado aislado e irrigado con fósforo amarillo, y las numerosas investigaciones sobre la autolisis aséptica de los tejidos, en las cuales aparecerían substancias grasas y lipoides, con aspecto característico de gotas de mielina (procesos de mielinosis). Estas pruebas serían favorables al origen endógeno, pero también podrían interpretarse según el concepto de la *lipofanerosis* (v. FURTH, MUNK); se trataría de grasas y lipoides que normalmente existen en la célula, aunque se hallan enmascarados por otros constituyentes, por ejemplo, en estado de combinaciones lipoproteicas; éstas, durante los procesos autolíticos o en el curso de los procesos desintegrativos intravitales,

(1) *Verhandl. d. Kongr. f. inn. Med.*, 1897; *Zeitschr. f. klin. Med.*, vol. XXVIII.
(2) *Policlinico*, Sez. Med., IX, 1912.
(3) Citado, según LUSTIG-GALOOTTI, *Trattato di Patologia generale*, 6.ª edic., Milán 1923.

se desdoblarían liberando las grasas, que luego se revelan como tales por los métodos histoquímicos.

En realidad, toda la cuestión ha sido más debatida con argumentos histológicos que con argumentos químicos. La *lipofanerosis*, la aparición de grasa por liberación de los complejos preexistentes, sería en el fondo, como observan justamente LUSTIG y GALEOTTI, un proceso degenerativo y no infiltrativo, cosa muy distinta de un verdadero proceso de transformación de las proteínas, es decir, de los aminoácidos, en cadenas de ácidos grasos, que es lo que se quería y debería demostrar. Por el contrario, según la teoría de la lipofanerosis, los ácidos grasos estarían preformados en el protoplasma, y el proceso de desintegración debería ponerlos en evidencia, mientras que lo que queremos saber es si pueden formarse ácidos grasos directamente por la destrucción molecular de las proteínas. De todas maneras, actualmente ha adquirido ventaja la teoría infiltrativa, y se admite generalmente que la grasa de los animales intoxicados por los venenos llamados esteatógenos (P, As, alcohol, *oleum pulegii*, etc.) son grasas de reserva (*liposis infiltrativa* de CIACCIO), aunque también se acepta en estos casos la existencia de un proceso degenerativo en el sentido de la fanerosis de las grasas y especialmente de los lipoides, como en la llamada descomposición grasa o mielínica, que es generalmente postvital (KAWAMURA). CIACCIO (1) sostiene, desde hace poco, la teoría infiltrativa, y dice que la liposis infiltrativa es el exponente de la incapacidad por parte de los tejidos para consumir las grasas que les son aportadas (2), es decir, de la *insuficiencia lipodierética* de los mismos tejidos. Para los detalles histoquímicos acerca de la adiposis patológica de las células, remitimos a los tratados de Patología general y a la monografía de KAWAMURA (3), que se ocupa especialmente de la esteatosis colesterínica (la infiltración grasa, esteatosis o liposis infiltrativa se divide, según la naturaleza de la grasa patológica, en *esteatosis por ésteres glicéricos*, *esteatosis por ésteres colesterínicos* y *esteatosis por varios lipoides*, entre los cuales destacan particularmente los fosfátidos y los jabones).

(1) *Arch. Scienze biologiche*, vol. IV, n.° 3 y 4, 1923.
(2) LOMBROSO (*Arch. intern. d. phys.*, vol. XVIII) hace resaltar los siguientes hechos: sometiendo a circulación el hígado de un perro, la grasa total del hígado y de la sangre, determinada por el método de KUMAGAWA-SUTO, va disminuyendo durante la circulación si el órgano es de animal en plena digestión; de esto se deduce que el hígado consume grasa durante la digestión; en cambio durante el ayuno no existe este consumo, y tampoco se nota en el hígado de los perros pancreatectomizados, de donde la hipótesis de L. de que el fenómeno depende de la acción hormónica del páncreas. CIACCIO (loc. cit.) ha encontrado que el hígado de un animal intoxicado por venenos esteatógenos se comporta como el hígado de los animales en ayuno: no consume grasa, y hasta a veces presenta cierto aumento de ella, que CIACCIO intenta explicar ingeniosamente sin verse obligado a admitir una génesis proteica.
(3) *Die Cholesterinesterverfettung*, Jena, 1911.

b) Transporte y escisión de las grasas.

Las grasas son un material rico en energía potencial, produciendo en la combustión completa cerca de 9 calorías por gramo. Son, por lo tanto, un precioso material de reserva, que el organismo moviliza en tiempo oportuno. ¿Cómo se verifica el transporte de las grasas, por ejemplo, del depósito del tejido subcutáneo al hígado, donde probablemente son iniciados los procesos de oxidación con *desaturación*, es decir, donde seguramente los ácidos saturados son transformados por deshidrogenación en ácidos no saturados, más aptos para ser oxidados ulteriormente y hasta para sufrir la fragmentación de su cadena, como ya hemos dicho varias veces? ¿Cómo se realiza el transporte de las grasas desde la superficie absorbente intestinal a los depósitos o a los lugares de consumo? La grasa es absorbida por el tubo digestivo principalmente en forma de jabones alcalinos y glicerina, verificándose, sin embargo, la recomposición de la grasa neutra en la misma pared intestinal; así, si se administra palmitato de etilo o esperma de ballena, el ácido palmítico es absorbido en forma de palmitato alcalino y se combina en la pared intestinal con la glicerina, de modo que a la linfa de los quilíferos llega siempre en estado de palmitato de glicerina. Por lo tanto, siempre es grasa neutra lo que se encuentra en el sistema quilífero y lo que llega a la sangre (*lipemia digestiva*, que frecuentemente se reconoce hasta por el aspecto opalino del suero extraído durante la digestión). Sin embargo, no sería extraño que una parte de la grasa fuese fijada en la sangre por los elementos morfológicos en forma de lipoides o ésteres colesterínicos; parece como si una parte de los ácidos grasos ya experimentase una desaturación en la sangre y esta misma porción fuese admitida después en la molécula de los fosfátidos o de otros complejos coloidales, quizá como fase preparatoria de la ulterior combustión en los lugares de consumo. En realidad existen observaciones de un aumento de fosfátidos y de ésteres colesterínicos en la sangre después de una comida únicamente formada por grasas neutras, y estas observaciones, unidas a que el hígado es rico en fosfátidos y ácidos grasos no saturados, harían pensar en la certeza del siguiente mecanismo previo a la combustión de las grasas: la grasa absorbida circula en parte en forma de grasa neutra, pero en parte ya es escindida en la sangre por las lipasas hemáticas, y el ácido graso es desaturado, admitido a formar parte de complejos moleculares más elevados (como las lecitinas) y preparado para sufrir la acción consecutiva de las fuerzas oxidantes. Esta fase de inclusión en lipoides, previa una desaturación parcial, es impuesta con más rigor todavía a la grasa fijada por el hígado (que tiene una *función adipopéxica*, fijadora de la grasa, como dice Ciaccio), por lo cual los fosfátidos y otros lipoides deben ser (Loew) una verdadera «máquina para quemar los ácidos grasos».

De todas maneras, para penetrar en los depósitos y en los lugares de consumo, las grasas neutras deben ser escindidas por *lipasas* que se encuentran abundantemente difundidas en los tejidos y especialmente en aquellos de mayor importancia para el metabolismo de las grasas. Así también, cuando las grasas de reserva han de ser movilizadas, deben existir lipasas que determinen su escisión, seguida de saponificación y del paso a través de las paredes vasculares, con reconstrucción consecutiva de la grasa neutra. En resumen: probablemente sólo se realizan las movilizaciones de grasa previa escisión y saponificación a fin de que sea posible su paso a través de las membranas (paredes vasculares, envolturas celulares). Llegada al lugar de consumo, la grasa vuelve a ser escindida en ácido graso y glicerina. Si se trata de lipoides, la escisión debe estar a cargo de *lecitinasas* y enzimas parecidas. El destino de la glicerina es fácil de prever: puede ser sencillamente quemada o puede producir azúcar y, por lo tanto, ser almacenada eventualmente en forma de glucógeno. Vamos ahora a ocuparnos del destino del ácido graso, una vez separado del glicérido, del éster colesterínico o del lipoide.

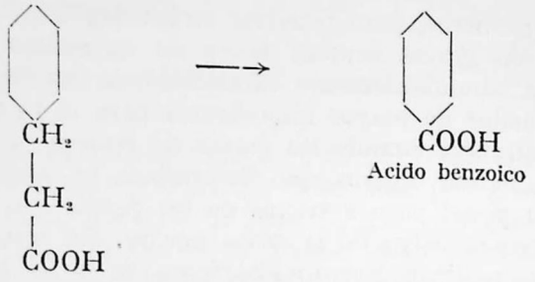
Se deben a Knoop (1) y a Dakin (2) las nociones fundamentales sobre esta cuestión: el segundo ha demostrado que la oxidación por medio del agua oxigenada, que es la que reproduce con mayor aproximación el modo de realizarse los fenómenos en el organismo, determina en los ácidos grasos una oxidación en posición β, opinión también sostenida por el primero de estos investigadores, fundándose en experimentos fisiológicos.

Para ello Knoop, ha suministrado a los animales ácidos grasos benzosustituídos, pensando que el núcleo aromático, siendo inatacable, convertiría la molécula en menos prontamente combustible y permitiría estudiar cómo ha sido modificada la cadena carbonosa. En efecto, si se dan simples ácidos grasos, son rápidamente quemados hasta CO_2 y H_2O, y poco se averigua acerca de las transformaciones intermedias, mientras que dando ácidos grasos con un anillo aromático adherido, se encuentra en la orina el producto final, que es diverso según que se administren ácidos aromáticos cuya cadena lateral tenga un número par o un número impar de átomos de C. Tomemos como ejemplo el caso de la ingestión de ácido fenilpropiónico (que ya sabemos que también se forma en la putrefacción intestinal de la tirosina): en la orina se encuentra ácido benzoico o, mejor dicho, el producto de su acoplamiento con la glicocola (ácido hipúrico):

---

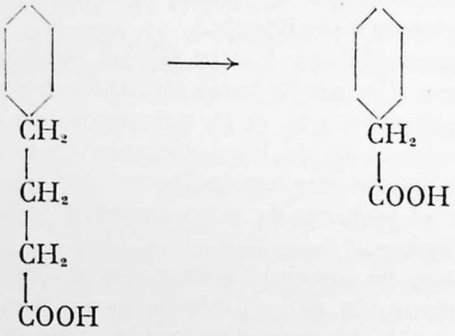
(1) *Hofmeister's Beitr.*, vol. VI, 1905; *Bioch. Zeitschr.*, vol. CXXVII, 1922; *Klin. Woch.*, 1923, n.° 2.

(2) *Journ of biol. Chem.*, vol. IV-VI.

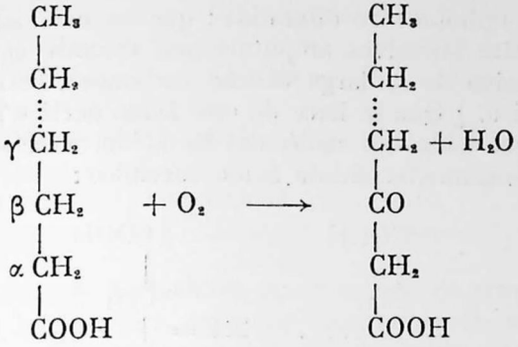


Acido benzoico

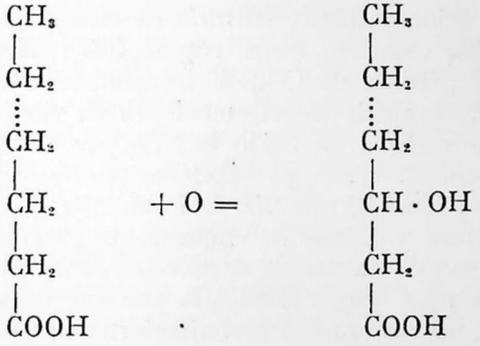
y también se obtiene ácido benzoico como producto final, siempre que se haya administrado un ácido aromático que provenga de la sustitución de un hidrógeno del núcleo bencénico por un radical de ácido graso con 3, 5, 7... átomos de C. Si damos ácido fenilbutírico o cualquier ácido aromático con cadena lateral de 4-6-8... miembros, es decir, con número par de átomos de C, siempre encontraremos en la orina el ácido fenilacético, inatacable ulteriormente :



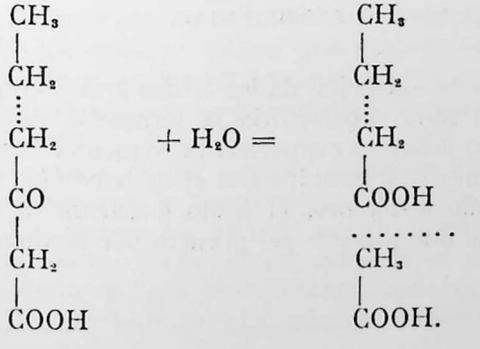
Estos ácidos grasos con un anillo bencénico inatacable actúan, por lo tanto, como testigos del comportamiento de los respectivos ácidos de la serie alifática : los ácidos grasos son atacados con pérdida sucesiva de 2 átomos de C, las largas cadenas se reducen de 2 en 2 átomos de C y por esto los ácidos con número par de C llegan a un ácido terminal con 2 átomos de C, y los de número impar a un solo C terminal. De un ácido graso con n átomos de C se obtiene un ácido con $n-2$, luego uno con $n-(2+2)$ ó $n-4$, después otro con $n-(2+2+2)$, o sea con $n-6$, luego con $n-8$; $n-10$; etc. De C_{18}... (como el ácido esteárico) se obtiene C_{16}... ; C_{14}... ; C_{12}..., etc. Ahora se comprende por qué de los ácidos con 18 ó 16 átomos de C, como los corpóreos, no se puedan formar más que ácidos con número par de átomos de C : tales son los ácidos de la mantequilla y los ácidos cetónicos que aparecen en las acidosis diabéticas o por ayuno, sobre los que insistiremos, y que, repetimos, se obtienen solamente de los ácidos con número par de C (en efecto : el ácido levulínico, de 5 C, no es cetógeno). La separación de dos átomos de C cada vez se realiza por un ataque oxidante que obra sobre el carbono β, o sea el segundo C de la cadena a partir del carboxilo :



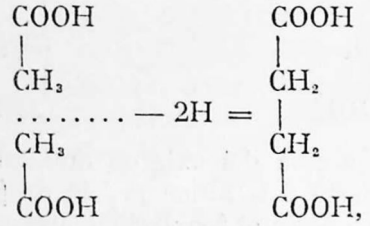
Según KNOOP, la acción del oxígeno molecular conduciría, según la fórmula antes expuesta, a la formación de un β-cetoácido ; mientras que el oxígeno atómico daría el β-oxiácido correspondiente:



Pero, ateniéndonos a las ideas expuestas en el capítulo VIII de la Sección precedente, la transformación consistiría primero en una deshidrogenación que produciría un ácido no saturado, seguida de hidratación, con formación del oxiácido, y de una nueva deshidrogenación de la que resultaría el cetoácido (pág. 525). De todos modos, parece demostrada la formación del cetoácido (por la vía de la oxigenación directa o por deshidrogenación) con el grupo cetónico en posición β. Después puede pensarse en una hidrólisis que amputa los dos últimos átomos de C en forma de ácido acético :



Esta es la opinión más difundida : que los dos átomos de C que se separan en estas sucesivas amputaciones, durante el proceso de oxidación progresiva de la larga cadena carbonosa, se liberen en forma de ácido acético. ¿ Qué se hace de este ácido acético ? KNOOP y WIELAND creen que cada dos moléculas de ácido acético son deshidrogenadas simultáneamente, dando ácido succínico :



en cuyo caso el ácido succínico entraría en el engranaje de deshidrogenación-hidratación expuesto en la página 523, pasaría a ácido cetosuccínico y, por pérdida de CO_2, se transformaría en ácido pirúvico, substancia capaz de sufrir transformaciones en varios sentidos: puede, por ejemplo, convertirse en ácido láctico por reducción, y el ácido láctico es susceptible, como ya sabemos, de regenerar glucosa. Esta podría ser, según KNOOP, una vía de formación de azúcar a expensas de los ácidos grasos y a base de emplear las parejas de átomos de C que se separan sucesivamente en el proceso de acortamiento de dichos ácidos, vía económica y que explicaría por qué no aparece ácido acético en la orina, no obstante su probable formación continua.

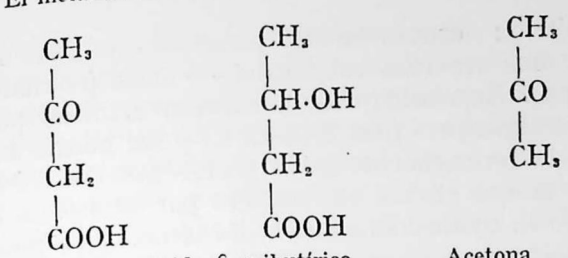
También el almacenamiento y el consumo de las grasas está, como el de los hidratos de carbono, sujeto a influencias hormónicas: activan el consumo de las grasas, las hormonas tiroideas de una manera particular, además las hipofisarias y parte de las genitales. Volveremos a tratar de esta regulación hormónica del metabolismo de las grasas al ocuparnos de la polisarcia.

Acerca del metabolismo de la colesterina, véase Sección I, Capítulo IV, *d*, 3 y 4.

c) La cetosis o acetonemia.

La teoría de la oxidación de los ácidos grasos en posición β explica de una manera muy satisfactoria la formación de los *cuerpos acetónicos*, de los que debemos ocuparnos brevemente.

Con este nombre, y también con el de *cetoácidos*, se designan generalmente el *ácido acetacético*, el ácido β-*oxibutírico* y la *acetona*, que puede suponerse que procede del primero por pérdida de CO_2 :



Acido acetacético — Acido β-oxibutírico — Acetona

En realidad el ácido acetacético es, en estado de pureza, una substancia siruposa, higroscópica, que por calentamiento se descompone en CO_2 y acetona. Pequeñas cantidades de ácido acetacético y de acetona (a las que son insensibles las reacciones de uso clínico) se encuentran normalmente en la orina — de 10-30 mgr. de acetona en 24 horas, comprendiendo también el ácido acetacético, que es determinado cuantitativamente como acetona — ; de esto se deduce que también deben encontrarse en la sangre y en los tejidos. La acetona, que es volátil (hierve a 56°) a diferencia de su substancia madre, se elimina principalmente por la vía pulmonar y se encuentra en el aire expirado, pero normalmente en pequeñísimos indicios. En cuanto al ácido β-oxibutírico, es una substancia ópticamente activa (tiene el carbono β asimétrico) que en el organismo aparece en forma levógira y se origina por reducción del ácido acetacético (adición de dos H) : no se encuentra normalmente en la orina ; quizá en indicios en algunos tejidos y en la sangre. Es muy higroscópico, de aspecto siruposo, funde a 49° y es soluble en agua, alcohol y éter. El ácido β-oxibutírico regenera fácilmente por oxidación (deshidrogenación) el ácido acetacético. La reacción siguiente es, por lo tanto, típicamente reversible

$$CH_3 — CO — CH_2 — COOH \rightleftarrows CH_3 — CH{\cdot}OH — CH_2 — COOH.$$

En la actualidad se acepta generalmente que el ácido acetacético es, de los tres *cuerpos cetónicos*, el que aparece en primer lugar, y que de él derivan por descomposición la acetona y por reducción el ácido β-oxibutírico.

En los casos de aumento de la formación de cuerpos cetónicos, el ácido β-oxibutírico es, pues, el último que aparece en la orina, pero aumenta rápidamente y, en las formas más graves, puede acabar por representar las $^4/_6$ partes y aun más de la eliminación total de cuerpos acetónicos por la orina.

La formación normal de los cuerpos cetónicos no tiene nada de extraño, si nos atenemos a la teoría de la oxidación en β, según la cual todos los ácidos grasos con número par de átomos de C a partir de C_{18} y C_{16}, como son los ácidos grasos del cuerpo, deben llegar, por degradación progresiva y bajo la influencia oxidante del organismo, al ácido graso C_4 y, por lo tanto, al cetoácido correspondiente, que es

el ácido acetacético ; después es fácil pasar de éste a los otros cuerpos acetónicos, por una reacción colateral (⟶ ácido β-oxibutírico) o por escisión (acetona). En realidad la circulación artificial por el hígado de ácidos grasos superiores (con 8-10-12 C) y del mismo ácido butírico ha demostrado la formación de ácido acetacético (1), así como la administración de ácidos grasos con número par de átomos de C al diabético o al perro en ayunas ha confirmado también su poder cetógeno, ya que en tales casos en la orina pronto aparecen el ácido acetacético y sus derivados. Así como los aminoácidos se convierten por desaminación en ácidos grasos, es de suponer, y los experimentos (en la triple forma de circulación artificial, de administración al diabético y de administración al animal en ayuno) lo demuestran, que también éstos son *cetógenos ;* pero lo son los aminoácidos con número impar de átomos de C, porque, como veremos, en el metabolismo un aminoácido genera un ácido graso con un C de menos. Aunque incluso las proteínas sean cetógenas, *quedan siempre las grasas como cetógenos principales.* Normalmente la transformación ulterior del ácido acetacético en otros cuerpos cetónicos es tan rápida que no se consigue con nuestros métodos analíticos sorprender más que indicios, los que escapan a esta transformación : he aquí por qué la *acetonemia* o *cetosis fisiológica* no se presenta más que *en grado mínimo,* aun cuando siempre sea comprobable. *Los cuerpos cetónicos son productos intermedios, normales, pero transitorios, del metabolismo de las grasas (y de las proteínas).* Su destino ulterior se desprende de cuanto ya hemos dicho en otras ocasiones ; así, el ácido acetacético, es desdoblado con formación de acetona volátil, eliminable por la orina o por el pulmón (desdoblamiento cetónico), pero difícilmente combustible en el organismo ; tal vez es más probable que sea desdoblado por hidrólisis, con formación de ácido acético, también combustible aunque en pequeñas dosis, pero capaz de transformaciones consecutivas, según las investigaciones recientes (2). Por lo demás, el ácido acetacético puede engranar en el metabolismo de los hidratos de carbono y ser utilizado para la síntesis de los azúcares, como dijimos en la página 566 (véase el esquema allí reproducido). De todas maneras, normalmente perdemos de vista los cuerpos acetónicos apenas formados, por decirlo así, y se necesitan condiciones especiales para que persistan, se acumulen y sean más o menos claramente demostrables, como en la *verdadera acetonemia* o *cetosis,* con cuyo nombre se entiende la presencia en la sangre (y en la orina) de cuerpos acetónicos en cantidad superior a los indicios normales. La *cetosis* aparece siempre que en el organismo hay una *combustión insuficiente de hidratos de carbono ;* ésta es la condición fundamental de la aparición de cuerpos cetónicos en abundancia. Se ha dicho que las grasas no se quemaban bien más que en el «fuego» de los hidratos de carbono : es un hecho que si el organismo está empobrecido en hidratos de carbono, como sucede en el ayuno, o es incapaz de retenerlos y utilizarlos ampliamente, por lo cual los elimina por la orina, como pasa en los diabéticos, el metabolismo de las grasas (y de las proteínas) experimenta una especie de detención cuando llega a la etapa de los cuerpos acetónicos, por lo cual éstos se acumulan en la sangre. Tiene particular interés un hecho puesto en evidencia por SHAFFER (1) : si se trata con agua oxigenada el ácido acetacético en presencia de glucosa, estos dos cuerpos orgánicos se oxidan rápidamente, mientras que en ausencia de la glucosa el cetoácido resiste notablemente a la oxidación. SHAFFER supone que si la glucosa favorece la oxidación es porque proporciona un producto que se combina con el ácido acetacético, y el complejo así formado sufre la oxidación : el producto originado por la glucosa actúa como agente cetolítico. Los hidratos de carbono tendrían *in vivo* una acción *anticetógena* relacionada con esta acción *cetolítica in vitro ;* el ácido acetacético, del que derivan los otros cuerpos cetógenos, se acumula siempre que en el organismo no hay suficientes agentes cetolíticos derivados de la glucosa o de otras substancias anticetógenas. El ayuno de hidratos de carbono y la diabetes son las condiciones fundamentales en las cuales se observa la acetonemia, y en el ayuno, como en la diabetes, la administración de hidratos de carbono tiene una *acción anticetógena* muy marcada en el sentido de que hace retroceder rápidamente la formación de los cuerpos cetónicos. También los aminoácidos, y precisamente los que son glucogenéticos (véase capítulo precedente), son anticetógenos, mientras que, como ya se ha dicho, otros aminoácidos son más bien cetógenos. Así, son anticetógenos la glicocola, la alanina, el ácido aspártico y el glutámico. Quizá en las proteínas predominan unas veces los grupos cetógenos y otras los anticetógenos, según de que albuminoide se trate. La glicerina, las pentosas, el alcohol etílico, el ácido cítrico y el glutárico son también substancias anticetógenas, nociones que deben tenerse en cuenta en el tratamiento de los diabéticos. Ya hemos visto que la insulina es un poderoso medio anticetógeno porque permite de nuevo en el diabético la utilización y el almacenamiento de los hidratos de carbono. La cetosis es en el diabético la causa fundamental de la *acidosis* con sus graves consecuencias (coma). Ignoramos si en los casos graves toman parte también otros derivados metabólicos aun desconocidos, además de los ácidos acetacético y β-oxibutírico y de la acetona. De la misma manera no se sabe con seguridad si estos cuerpos tienen también una verdadera acción tóxica, además de la que producen al apoderarse de las reservas alcalinas y por ser una amenaza para la constancia de la concentración en H-iones del medio orgánico interno.

(1) EMBDEN y sus colaboradores, *Hofmeister's Beitr.,* vol. VI-XI.

(2) Por otra parte quizá también es posible que se forme ácido acético en la degradación de los ácidos grasos, o sea en la separación de pares sucesivos de átomos de C. El ácido acético puede combinarse con sí mismo molécula a molécula, con eliminación de una molécula de agua, y formar ácido acetacético : éste sería un origen sintético de los cuerpos acetónicos, tal vez posible en ciertas condiciones. En efecto se ha demostrado que la perfusión de ácido acético en el hígado puede producir ácido acetacético, *si el órgano es pobre en glucógeno.*

(1) *Journ. of biol. Chem.,* vol. XLVII, pág. 433, 1921.

Parece que, esencialmente, la cetosis diabética corresponde a la del ayuno : manteniendo a un individuo sometido a un régimen exento de hidratos de carbono, pero con administración de grasas, pueden alcanzarse cifras muy elevadas (hasta de 60 gr. de ácido β-oxibutírico al día) en la eliminación urinaria de cuerpos cetónicos, casi como en la diabetes. En esta enfermedad se pueden observar eliminaciones urinarias de 100-150 gr. al día de ácido β-oxibutírico, y de 10-30 gr. de acetona total (o sea la suma de la acetona propiamente dicha y la procedente del ácido acetacético). Esta eliminación agrava la pérdida energética que sufre el diabético, puesto que 1 gr. de ácido β-oxibutírico representa unas 4,5 calorías. El hígado tiene una gran importancia en la génesis de los cuerpos cetónicos en condiciones normales y en el ayuno de hidratos de carbono, y, por lo tanto, también en la diabetes: Fischler (1) lo ha demostrado con un hermoso experimento : en el perro se pueden conseguir, por medio de la administración de floridcina, las condiciones más apropiadas para la manifestación de la cetosis, o sea la depauperación en hidratos de carbono circulantes y de reserva ; si entonces se practica al perro una fístula de Eck, de manera que se desvíe del hígado gran parte de la sangre produciendo la hipofunción de este órgano, se obtiene con la floridcina una cetosis mucho menor que en el perro con circulación normal; si, viceversa, se practica lo que Fischler llama una fístula de Eck *invertida*, que consiste en hacer que la sangre de la vena cava inferior pase a la vena porta, la floridcina produce una cetosis enorme, precisamente, según este autor, por la mayor irrigación y, por lo tanto, por una mayor capacidad funcional del hígado en estas condiciones experimentales en las cuales pasa por el hígado casi toda la sangre de la mitad inferior del cuerpo.

Notemos que la eliminación de los ácidos cetónicos va acompañada también de un notable aumento de la eliminación amoniacal: el organismo emplea en abundancia el amoníaco como medio defensivo contra la acidosis, reduciendo de un modo correlativo la formación y la eliminación urinaria de la urea. La determinación del NH_3 urinario es, por lo tanto, útil para comprobar la presencia de la acetona y hasta cierto punto el grado de acetonemia en el diabético, y accidentalmente la amenaza del coma. El NH_3 sólo es utilizado para la neutralización de los ácidos anormales mientras no hay disponibilidad de *álcalis fijos*, por lo cual no existe un paralelismo exacto entre el NH_3 urinario y el grado de acidosis. Según Magnus-Levy, de 8 gr. de NH_3 urinario cifra colosal) corresponden 1-2 gr. a la fijación de los ácidos normales del metabolismo (régimen cárneo) y el resto a 36-40 gr. de ácido β-oxibutírico.

Otro signo importante de acidosis en el diabético es la gran tolerancia para los álcalis, en el sentido de que se necesita administrar cantidades de bicarbonato sódico u otros alcalinos mucho mayores que normalmente para alcalinizar la orina, indicio de que han aumentado

(1) *Phys. u. Path. d. Leber*, Springer, Berlín, 1916.

las valencias ácidas de la orina. En realidad, los cetoácidos son parcialmente eliminados como tales, pero también circulan por la sangre en forma de sales alcalinas: el organismo economiza álcali y procura desembarazarse de los ácidos. Una abundante administración de bicarbonato facilita la eliminación de los cetoácidos que, por lo tanto, aparecen en mayor cantidad en la orina.

Las modernas nociones acerca de la cetogénesis encuentran extensa aplicación en la terapéutica de la diabetes ; especialmente los autores americanos han fijado en fórmulas, quizá demasiado precisas y esquemáticas, lo que ellos llaman el *balance de las substancias cetógeno-anticetógenas* en el diabético. Shaffer, al cual se deben las importantes investigaciones ya citadas sobre la cetolisis por la glucosa *in vitro* y una hipótesis que hace aplicación al organismo de aquellas nociones, mide la influencia cetógena y anticetógena de cada uno de los alimentos que son metabolizados en mezcla compleja (mezcla metabólica), y cree poder asegurar que cada molécula de ácido graso de aminoácido cetógeno genera una molécula de ácido acetacético; que dos moléculas de glicerina (de las grasas) son convertidas en una de glucosa; que los aminoácidos y, por lo tanto, las proteínas, son convertidos en glucosa en la proporción de 3,6 gr. de glucosa por cada gramo de N urinario, y que todos los hidratos de carbono, incluyendo en ellos la glucosa formada de la glicerina y de las proteínas, tienen acción cetolítica, porque pueden reducirse a glucosa con 6 átomos de carbono. Shaffer (1) calcula, pues, que entre las moléculas cetógenas y las anticetógenas existe aproximadamente la relación de 1 : 1, o sea $\frac{\text{molécula-gramo de ácido acetacético}}{\text{molécula-gramo de glucosa}} = 1$ cuando se está en los límites de la cetosis, es decir, cuando aparecen los primeros indicios claros de cuerpos cetónicos. Woodyatt (2) ha confirmado esta ley con cuidadosas observaciones clínicas, y también Habbard y Wright (3) cuentan con observaciones que concuerdan con bastante aproximación. Por lo tanto, varios observadores coinciden en encontrar en el «límite de aparición de la cetosis» una proporción constante (1 : 1 y hasta 2 : 1) entre las substancias cetógenas, calculadas en ácido acetacético, y las substancias cetolíticas, calculadas en glucosa. El régimen del diabético, como dice Shaffer (4), debería cumplir estos dos fines: evitar que se someta la tolerancia para los hidratos de carbono a un esfuerzo excesivo que determinaría la disminución de esta tolerancia (efectivamente: en la diabetes, la administración abundante de hidratos de carbono disminuye siempre la tolerancia para éstos, mientras que la administración cuidadosa eleva dicha tolerancia y mejora su ulterior utilización) y procurar que la cetosis no vaya más allá del «margen de seguridad»,

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XLVII y LIV, 1921-1923.
(2) *Arch. Intern. Med.*, vol. XXVIII, pág. 125.
(3) *Journ. of Biol. Chem.*, vol. L. pág. 361 ; vol. LVII, pág. 115.
(4) Trabajo en vol. LIV, pág. 401.

manteniendo siempre el organismo en el mejor estado de nutrición posible. El enfermo debe, por lo tanto, mantener el aporte de los materiales formadores de glucosa *por debajo* del límite de tolerancia, pero por encima de la cantidad necesaria para proporcionar agentes cetolíticos suficientes para evitar la cetosis; la variación entre estos dos puntos, amplísima en el individuo normal, queda reducida en el diabético y representa el verdadero «factor de seguridad» *(factor of safety* de los ingleses y americanos) que posee el individuo. Es necesario, pues, dar a cada diabético el mínimum de hidratos de carbono para proporcionarle un verdadero margen de seguridad anticetógena, pero no más. Sin embargo, el diabético deja de utilizar parte del azúcar y lo elimina como tal: esta porción no entra, por lo tanto, en la «mezcla metabólica» y no ejerce acción cetolítica. En este caso es necesario reducir el aporte de material cetógeno (grasas; proteínas, más o menos según su molécula); es necesario reducir también el metabolismo total, y para ello se recurre a los regímenes reducidos, ya preconizados por v. NOORDEN y otros autores.

SHAFFER y los otros investigadores citados dan fórmulas más o menos complejas para el cálculo del régimen tomando como base el balance cetógeno-anticetógeno; pero para este asunto debemos remitir a los trabajos originales. No negaremos que esta exactitud en el cálculo nos parece un poco exagerada: quedan bien sentados los principios de la terapéutica fundada en una dieta total moderada y hasta reducida, sin los excesos carnívoros ni las fobias para los amiláceos, de moda en otro tiempo; pero el metabolismo es tan complejo que los cálculos aritméticos de las moléculas cetógenas y anticetógenas nos parecen fuera de lugar en la práctica. SHAFFER mismo no oculta las dificultades y objeciones cuando dice que los metabolitos son en el cuerpo un sistema polifásico y sus reacciones pueden ser influenciadas por varios factores no siempre fácilmente dominables.

Reacciones de los cuerpos cetónicos. — La *investigación de la acetona* (como acetona preformada o como ácido acetacético: en la práctica tiene poca importancia su diferenciación) puede practicarse en la orina o en el producto de su destilación. Esta puede hacerse con un aparato sencillo (basta un matraz de destilación fraccionada cuyo tubo lateral se introduce en un tubo de ensayo que sirve de recipiente) y operando con 50 cc. de orina (a la que se añade un poco de ácido fosfórico hasta reacción ácida evidente con el rojo Congo).

Reacción de GUNNING: añádanse a la orina o al producto de su destilación unas gotas de líquido de Lugol (4 gr. de yodo, 6 gr. de KI y 100 cc. de agua destilada) y luego NH_3 a gotas hasta obtener un precipitado negro de yoduro de N, y déjese en reposo a veces durante algunas horas; el precipitado negro desaparece poco a poco y es sustituído, cuando hay acetona, por un precipitado *amarillo* de yodoformo (CHI_3) con olor y aspecto microscópico característicos (asteriscos con puntas, rosetas y laminillas hexagonales) que no hay que confundir, sin embargo, con los cristales más grandes de trifosfato.

Reacción de LIEBEN: basada en la formación de yodoformo, pero menos específica que la precedente, porque la dan también otras substancias *(alcohol)*. A la orina o al producto de su destilación se añade líquido de Lugol y potasa cáustica: formación de yodoformo. que puede reconocerse como antes, que se deposita con lentitud (24 horas) si la acetona es escasa.

Reacción de LEGAL: se alcaliniza fuertemente la orina con sosa o potasa cáusticas y se añaden 3-5 gotas de solución concentrada y *recientemente preparada* de nitroprusiato sódico; se obtiene un color rojo que pronto amarillea y es debido a la presencia en la orina de creatinina; *añadiendo entonces ácido acético*, si hay acetona el color *persiste* y se vuelve purpúreo o violeta. Añadamos también que la acetona no reduce el licor de Fehling, y que sólo reduce la solución amoniacal de plata por ebullición prolongada.

Para lo referente a los métodos cuantitativos, remitimos a la Tercera Parte. Solamente diremos ahora que uno de los métodos cuantitativos más antiguos (de MESSINGER) se funda en el principio de la reacción de LIEBEN: tratar la acetona con sosa cáustica y con un exceso de yodo y valorar después el yodo restante con el tiosulfato sódico; es, por lo tanto, un método yodométrico. Más recientemente se ha propuesto la aplicación de la capacidad de la acetona para reaccionar con el cianuro de mercurio. formando un compuesto insoluble, un cianuro cetomercúrico que puede separarse fácilmente y en el cual se dosifica el metal (1); da buen resultado para pequeñas cantidades de acetona. MARRIOTT (2), fundándose en esto, ha ideado unos métodos *microanalíticos* bastante sencillos, expuestos en la Tercera Parte.

Puede determinarse por separado la acetona preformada y la procedente del ácido acetacético, con los procedimientos de FOLIN (3) y de EMBDEN y ENGEL (4).

La *investigación del ácido acetacético* se hace mediante la *prueba de* GERHARDT con el percloruro de hierro: esta reacción solamente es sensible a una cantidad de ácido acetacético superior a los indicios fisiológicos, y cuando es positiva expresa, por lo tanto, una cetonuria clínicamente importante. Se practica añadiendo a la orina 1-2 gotas de solución diluída de percloruro de hierro: la aparición de un color rojo Burdeos indica la presencia del ácido acetacético (si hay precipitado, de fosfato de Fe, se filtra y se vuelve a añadir otra gota de percloruro) con tal de que se cumplan estas tres condiciones: 1.°, si se hierve la orina durante 2-3 minutos y se repite la prueba, ésta debe ser negativa, porque el ácido acetacético se ha descompuesto en CO_2 y acetona, que se han volatilizado; 2.°, si se acidula con H_2SO_4 y se agita con éter, en el extracto etéreo debe ser positiva la prueba con sal férrica diluída; 3.°, la coloración desaparece espontáneamente pa-

(1-2) Método de WILSON-SCOTT, *Journ. of Physiol.*, vol. XLII, pág. 444; modificación de MARRIOTT, *Journ. of biol. Chem.*, vol. XVI, pág. 281.
(3) *Journ. of biol. Chem.*, vol. III, pág. 177.
(4) *Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol.*, vol. II, pág. 324.

sadas 24-48 horas, por lo cual no debe tirarse el líquido hasta pasado este tiempo. En efecto: la reacción puede ser positiva por la presencia en la orina de sulfocianuros, acetato sódico, antipirina, salicilatos y varios cuerpos aromáticos, pero las tres condiciones dichas permiten generalmente la distinción (la 2.ª también es positiva con los sulfocianuros).

En lugar de la reacción de GERHARDT, y para eliminar estas causas de error, se ha propuesto un grupo de reacciones fundadas más o menos en el hecho de que el ácido acetacético se combina con el yodo formando derivados halogenados (como el ácido monoyodoacetacético: $CH_3CO \cdot CHI \cdot COOH$, que se escinde fácilmente en CO_2 y $CH_3CO \cdot CH_2I$ o yodoacetona). Tales son la reacción de MÖRNER-BONDI-SCHWARZ (calentar con líquido de Lugol o solución yodo-yodurada: olor característico de yodoacetona), la de LINDEMANN (1), que consiste en tratar 10 cc. de orina (acidulada con ácido acético) con 5 gotas de líquido de Lugol y 2 cc. de cloroformo y agitar después: si la orina contiene ácido acetacético, éste fija el yodo y no lo deja libre para colorear el cloroformo, que permanece incoloro (de otro modo, cuando falta el ácido acetacético, se tiñe de color rojizo). En el mismo principio se funda la reacción de ONDREJOWITCH (2), comprobada por RIETTI (3), que consiste en tratar la orina (acidulada) con líquido de Lugol y con solución al 2 °/$_{oo}$ de azul de metileno; éste, si el yodo queda libre, se tiñe de rojo por formarse un derivado yodado del azul de metileno, pero si el yodo es fijado por el ácido acetacético, el azul conserva o recupera pronto su propio color. Según RIETTI esta reacción no puede, sin embargo, substituir a la clásica de GERHARDT.

La *investigación del ácido β-oxibutírico* no es facil; puede sospechársele (ya que es levógiro) si la orina de los diabéticos da resultados polarimétricos inferiores a los obtenidos por volumetría. SHAFFER (4) ha utilizado para la determinación cuantitativa la oxidación del ácido en cuestión hasta acetona por medio del bicromato potásico (5).

d) LA OBESIDAD O POLISARCIA.

Puede obtenerse un depósito anormal de grasa en el organismo, precisamente en las regiones en que normalmente se acumula (en el tejido subcutáneo, en el mesenterio, alrededor de varias vísceras, etc.) por una ingestión exagerada de alimentos en comparación con el consumo material y energético. Colmadas rápidamente las reservas de primer orden (glucógeno), el organismo almacena como reservas de segundo orden (grasa) el exceso de substancias absorbidas y no utilizadas. Este desequilibrio en sentido positivo, que aparece en forma de

(1) *Münch. Med. Woch.*, 1905, n.° 29.
(2) *Deutsche med. Woch.*, 1912, n.° 30.
(3) *Rivista critica di Clinica medica*, vol. XV, n.° 27, 1914.
(4) *Journ. of biol. Chem.*, vol. V, pág. 211.
(5) Véase también MARRIOTT, *Ibid.*, vol. XVI, pág. 293.

polisarcia u obesidad, puede producirse por dos medios que hacen que se hable de forma *exógena* y de forma *endógena* de esta enfermedad del metabolismo. En la obesidad exógena hay un exceso de aporte de material con los alimentos, especialmente grasas e hidratos de carbono, cuya cantidad no consumida se deposita en forma de grasa, o bien, con absorción de cantidades normales de alimentos, hay un dispendio energético escaso por causas variadísimas: pereza, afecciones que obligan a la inmovilidad, profesiones sedentarias; son éstas las dos formas exógenas de obesidad, llamadas de hiperalimentación, o de pereza e hipomotilidad. Por otra parte, puede existir en ciertos sujetos una absorción normal o hasta reducida de alimentos con desarrollo de actividad muscular normal, y aun a veces notable; pero, a pesar de ello, pueden formarse grandes depósitos de grasa y, por lo tanto puede subsistir el desequilibrio entre entradas y salidas porque el organismo tiene un metabolismo de proporciones reducidas, posee necesidades energéticas fundamentales menores de lo normal, presenta combustiones de menor intensidad; éste es el bien conocido concepto del *retardo del metabolismo*, que, sin embargo, quizá se admite con excesiva facilidad. ¿Cuáles son las cuotas metabólicas en las que el metabolismo puede ahorrar, de manera que se coloque en un plan de metabolismo reducido? Tal vez se pueden referir de una manera especial a las excitaciones ejercidas sobre el metabolismo por la misma alimentación, de las cuales hablaremos en seguida. Estas son las formas de obesidad endógena, en las cuales el individuo engorda a pesar de las reducciones en el aporte energético y de un discreto consumo de trabajo mecánico, porque tiene un metabolismo reducido y necesita poca energía en comparación del normal: por lo tanto, para él, es excesivo como aporte y escaso como consumo la cantidad de substancias que ingiere (alimentos) y que emplea (trabajo), que serían convenientes al individuo normal para mantener el equilibrio metabólico.

Adviértase, sin embargo, que a veces se atribuyen a causas endógenas obesidades completamente exógenas: se trata de pequeños excesos alimenticios o de pequeñas reducciones en el consumo funcional, que se acumulan. Solamente 400 cc. de cerveza al día o 90 gr. de pan, representan 200 calorías; éstas, si no son consumidas, se almacenan en forma de unos 20 gr. de grasa: en un año son más de 7 kg. de grasa pura depositada, la cual con el agua, que la grasa retiene en cierta proporción, los vasos que se desarrollan en el tejido adiposo, etc., hacen por lo menos 10-11 kg. de este tejido (v. NOORDEN).

Un individuo que habitaba en un cuarto piso y, por cambiar de casa, va a vivir a uno de planta baja, deja de subir cuatro veces al día la escalera, y suspende un consumo de calorías que se calcula así: suponiendo que la habitación anterior estuviese a 15 m. de altura, el individuo levantaba su propio peso, por ejemplo 70 kg., cuatro veces a 15 m., o sea que hacía un trabajo de $4 \times 15 \times 70 = 4200$ kilográmetros. Admitiendo que el efecto útil del trabajo muscular es de un 30 % (es decir, que de 100 calorías producidas aparecen 30 como

trabajo muscular y el resto como calor o energía degradada) este trabajo exterior corresponde a un suministro de energía al organismo de 14 000 kg.-metros por lo menos, que, siendo 425 el equivalente mecánico de la caloría grande, corresponden $\frac{14000}{425} = 32{,}9$ calorías. Ahora bien: si este individuo que ahorra 32,9 calorías al día, no reduce el aporte alimenticio de un modo correspondiente, engorda: en efecto, 32,9 calorías ahorradas significan 3,54 gr. de grasa sustraídos a la combustión y en un año unos 1300 gr. de grasa, que corresponden a más de 1800 gr. de tejido adiposo. En 5 años este individuo aumenta, por esta sola causa, unos 9 kg. de peso (v. NOORDEN).

De todos modos, aun concediendo una gran parte a los factores alimenticios y de consumo, y aun reconociendo que el mayor número de obesidades son exógenas, es cierta la existencia de una verdadera obesidad endógena y hasta algunos, como LICHTWITZ, habrían observado una mayor frecuencia de la misma durante los años de carestía en Alemania, cuando las formas exógenas estaban muy disminuídas. Parece comprobado actualmente que la obesidad endógena es de origen endocrino: se trata de un desequilibrio hormónico con un consiguiente desequilibrio del metabolisno de las grasas y, precisamente, de una reducción de las influencias hormónicas excitantes del consumo de grasas. El tiroides es el que tiene mayor importancia como órgano endocrino excitante de las combustiones intraorgánicas en general y de la combustión de la grasa en particular, de tal manera que se ha llamado al tiroides el *fuelle* o el *aparato de tiraje* del organismo. Veremos también que una excitación del tiroides es, probablemente, la responsable en gran parte de la acción exaltadora del metabolismo o acción dinámica específica que posee la alimentación. En la obesidad endógena hay frecuentemente o *siempre*, según v. NOORDEN (1), v. NOORDEN y SALOMON (2), un estado de verdadero hipotiroidismo, un retardo metabólico por hipofunción tiroidea, un pequeño consumo de energía, quizá por reducirse la participación tiroidea en la acción dinámica específica de la alimentación. No es seguro que las otras glándulas de secreción interna también obren directamente sobre el metabolismo de las grasas: no poseemos pruebas seguras, como las que tenemos para el tiroides, de tal modo que los autores citados y muchos otros tienden a considerar que la hipófisis, las glándulas sexuales y quizá otros órganos endocrinos obran solamente por intermedio del tiroides, y a no ver en las formas de obesidad, de tipo hipofisario, hipogenital, etc., más que formas tiroideas en las cuales la hipofunción tiroidea es consecuencia de lesiones de otros órganos de secreción interna.

V. NOORDEN y SALOMON hacen la siguiente subdivisión de las formas endógenas o *tireógenas* de obesidad:

(1) *Fettsucht*. Viena, 1910.
(2) *Ernährungslehre*, Springer, Berlín, 1920.

A. Obesidad primitiva tireógena, por lesiones independientes del tiroides, por atrofia, degeneración, debilidad funcional congénita o adquirida del órgano. Se incluyen aquí las formas *seniles* de obesidad.

B. Obesidad tireógena secundaria, en la cual la debilidad funcional del órgano es producida por acciones a distancia a cargo de otras glándulas:

1.° Del páncreas: demostrada experimentalmente.
2.° De las glándulas sexuales (tejido intersticial). Es el tipo eunucoide.
3.° De la hipófisis: distrofia adiposo-genital de FRÖHLICH. Hay también tipo eunucoide. La grasa tiene una distribución particular.
4.° De la glándula pineal (hiperfunción): dudosa.
5.° Del timo: dudosa.

Queremos citar una opinión expuesta por v. BERGMANN (1), según la cual en la obesidad endógena no se trata de una utilización disminuída de la grasa a causa de una depresión metabólica y, por lo tanto, de necesidades energéticas menores, sino de una anomalía primitiva de las células adiposas, que han adquirido mayor avidez para la grasa y la sustraen al consumo fijándola tenazmente como las células de los lipomas. El lipoma representa un depósito de grasa difícilmente disponible para las combustiones orgánicas, como si la grasa estuviese protegida contra éstas y sustraída a los cambios entre las reservas y el resto del organismo, quizá por un mecanismo enzimático de lipolisis o liposíntesis incompleto, que influenciaría la salida de la grasa de las células o su ingreso en éstas. Según este modo de ver, la obesidad sería una especie de lipomatosis difusa y benigna, y la grasa sería conservada porque las células la atraerían como hacen generalmente las células neoplásicas con los materiales nutritivos.

No nos parece, sin embargo, que esta opinión puede justificarse plenamente: tal vez no es más que una brillante hipótesis de trabajo.

La acción favorable de la tiroidina y de otros preparados opoterápicos en la *obesidad endógena*, atestigua la importancia del trastorno hormónico en la génesis de dicha enfermedad del metabolismo. Frecuentemente se observan buenos resultados hasta en formas tireógenas no típicas y se trata (incluso con cierta frecuencia) de formas mixtas, en las cuales el elemento endógeno o tireógeno está en parte disimulado por el exógeno.

(1) *Deutsche med. Woch.*, 1909, n.° 14.

CAPÍTULO V

El metabolismo intermediario de las proteínas

a) Proteínas vivientes y proteínas de reserva.

Las proteínas son los constituyentes fundamentales del protoplasma considerándoselas como el verdadero substrato de la vida, aun cuando la vida probablemente resulta de acciones recíprocas complejas, entre dichas substancias y otros constituyentes: de todas maneras, no es posible pensar en materia viviente que no esté compuesta principalmente de proteínas.

Ya hemos visto que el organismo fabrica sus propias proteínas con materiales relativamente sencillos, aminoácidos o polipéptidos, que, reabsorbidos al nivel del tubo digestivo o penetrados en la sangre, llegan a los tejidos para ser empleados con fines de restauración del protoplasma desgastado por los procesos vitales, o bien, previa desaminación, son quemados para proporcionar energía, como los otros constituyentes alimenticios. Sin embargo, debemos decir que no todas las proteínas corpóreas forman parte del protoplasma vivo, no todas son *protoplasma respirante;* actualmente es cierta la presencia de materiales proteicos o engranados en el proceso misterioso de la vida, que no respiran, sino que representan una verdadera *reserva proteica*, comparable a las formadas por las grasas y por los hidratos de carbono. Es difícil distinguir lo que es proteína viviente de lo que es proteína no viviente: Palmer, Means y Gamble (1) han propuesto considerar el coeficiente creatinínico, o sea la medida de la eliminación urinaria de creatinina, como norma de la cantidad de proteínas verdaderamente vivas contenidas en el cuerpo, basándose en la teoría de Folin, que considera la creatinina como el último término del metabolismo endógeno (véase más adelante) de las proteínas. De todas maneras, está actualmente comprobado que en la hiperalimentación a base de proteínas e hidratos de carbono, que tienen una acción bien conocida de ahorro sobre las proteínas, es posible, no solamente en los desnutridos y convalencientes, sino también en individuos cuyo metabolismo transcurra en condiciones normales, obtener un ahorro

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XIX, pág. 239.

y almacenamiento de N, es decir, un aumento de proteínas corpóreas, que, sin embargo, no son masa viva y activa del protoplasma. Solamente Bornstein (1) ha sostenido que con estas experiencias de hiperalimentación se puede obtener una verdadera eutrofia de las células con aumento del protoplasma; mientras que Grafe (2), resumiendo los datos conocidos hasta el día, concluye que se trata de almacenamiento de una proteína especial, la desconocida *Mast-Substanz* («substancia de cebamiento») de Pflüger, la *albúmina circulante* de Voit, la «proteína de inclusión celular» de Lüthje, la «proteína lábil o muerta» de otros autores, la cual no es un constituyente necesario de las células, sino que es consumida poco a poco en el ayuno y quizá más fácilmente atacable por las acciones enzimáticas, que no la proteína verdaderamente viva. Hoy día no se puede admitir, como pensaba Voit, la identidad de esta reserva proteica con las proteínas del plasma sanguíneo, que son proteínas bastante diferentes y de función especial, aun cuando en el fondo sean también proteínas que no respiran, por lo que se sabe; pero no debe olvidarse que las reservas proteicas se encuentran principalmente en los tejidos y hasta, según las investigaciones morfológicas de Berg (3), parece demostrado que el hígado es el órgano donde están principalmente depositadas: este autor observó verdaderas gotas de substancia proteica endocelular en el hígado de ranas hiperalimentadas, mientras que no las pudo apreciar en el hígado de animales en ayuno. Mas recientemente Junkersdorf (4) ha encontrado un aumento notable de las proteínas en el hígado de los perros después de la administración de comidas albuminoideas abundantes: el hígado sería un verdadero «almacén de depósito» (Pflüger) para las proteínas.

Parece, por el contrario, que es imposible un aumento de verdadera proteína viva (o que es cuantitativamente despreciable) aunque se acreciente la oferta de material alimenticio a las células. Las células toman lo que necesitan y determinan por sí mismas sus propias necesidades; no aumentan de masa aunque dispongan de un exceso de materiales constructivos.

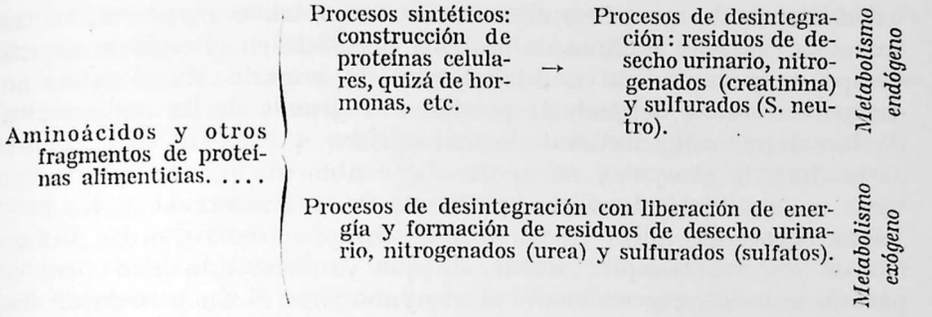
b) Destino de los aminoácidos en el metabolismo intermedio.

El tubo digestivo provee a la absorción de aminoácidos y quizá también de fragmentos mayores de la molécula proteica (polipéptidos), pero siempre — normalmente — privados de toda especificidad de origen. Con estos materiales fabrica, por una parte, las reservas proteicas actualmente admitidas, como acabamos de ver, pero que de todas maneras nunca son considerables y hasta sólo se ponen en evidencia

(1) *Berl. klin. Woch.*, n.° 46 y 47, 1904.
(2) *Pathol. Physiol. des ges. Stoff-und Kraftwechfels*, Bergmann, Munich, 1923.
(3) *Bioch. Zeitschr.*, vol. LXI, pág. 428.
(4) *Pflüger's Arch.*, vol. CLXXXVI, págs. 238 y 254.

en los experimentos, por decirlo así, de hiperalimentación forzada. Por otra parte, los materiales absorbidos sirven para dos fines fundamentales: para proporcionar los constituyentes esenciales a las células y, por lo tanto, a la restauración de las proteínas que se desgastan paulatinamente, y para el aporte de energía, pues las proteínas son quemadas en contacto con el protoplasma vivo de un modo comparable a como sucede con las grasas y los azúcares. Las proteínas tienen, pues, una función plástica y otra dinamógena; pero debe comprenderse que al decir «proteínas» se entienden sus constituyentes más sencillos, esencialmente los aminoácidos: el metabolismo proteico se resuelve en el metabolismo de los aminoácidos. En otro tiempo se admitía que todos los aminoácidos absorbidos y penetrados en la sangre servían para edificar nuevo protoplasma que luego se desintegraba rápidamente para las funciones energéticas; pero hoy la generalidad de fisiólogos supone que sólo una parte relativamente pequeña de aminoácidos es admitida en el complejo de las proteínas vivientes e incorporada, por lo tanto, a complicados y aun misteriosos procesos sintéticos; el resto, por el contrario, es consumido como combustible celular sin haber alcanzado la dignidad de proteína viva y tal vez ni siquiera la de proteína de reserva o circulante, sino como tales aminoácidos. Por lo tanto, deben estudiarse los dos caminos que siguen los aminoácidos de origen alimenticio: el del recambio plástico y el que los lleva no a formar parte del protoplasma vivo, sino a la desintegración, permitiendo su utilización con fines energéticos. Pero como las proteínas celulares también se desgastan poco a poco y en ellas hay una sucesión continua de fenómenos anabólicos y catabólicos, debemos además tener en cuenta los fenómenos desintegrativos de estas proteínas y el destino de los fragmentos proteicos que representan el término de aquellos fenómenos. Tendremos, pues, que ocuparnos de dos grupos de fragmentos proteicos y de dos tipos de metabolismo nitrogenado y proteico; por una parte nos encontramos con el metabolismo que podríamos llamar *exógeno* y que corresponde a las proteínas alimenticias, cuyos fragmentos se hallan en la sangre — como lo demuestra el aumento de aminoácidos en la sangre durante la digestión de una comida proteica (pág. 392)—, y también pueden ser utilizados como fuentes de energía, dando productos terminales que se eliminan por las vías urinairas (urea, sulfatos); pero, por otra parte, tenemos el recambio *endógeno* representado por la parte de proteínas celulares que se desgastan en los procesos vitales y que da origen a productos terminales diversos (creatina-creatinina, azufre neutro), destinados también a ser eliminados por la orina. Además, el metabolismo endógeno utiliza indirectamente las proteínas alimenticias, cuyos fragmentos son bloques constructivos que se ofrecen a la actividad del protoplasma, y que, una vez ingresados en el engranaje del protoplasma vivo, sufren transformaciones diversas, proporcionan determinados grupos atómicos que de otro modo el protoplasma no podría construir (seguramente también sirven para la formación de hormonas) y después dan lugar a diversas substancias de desecho que son diferentes de las que resultan del metabolismo exógeno, el cual, por el contrario, parte *directamente* de las proteínas alimenticias y sigue muy de cerca las oscilaciones cuantitativas de éstas.

Podemos establecer el siguiente cuadro:



Naturalmente, existen íntimas relaciones recíprocas entre estos dos metabolismos; así, en los procesos de desgaste celular intenso pueden liberarse aminoácidos que, si es necesario, pueden seguir la vía del metabolismo exógeno y servir para proporcionar energía (ayuno), o, como sucede en ciertas condiciones normales y patológicas, pueden ser utilizados para nuevos procesos sintéticos: nos referimos aquí a la *sustitución* o *reconstrucción endógena* de proteína o transformación de las proteínas de un órgano o de un tejido en proteínas de otro órgano o tejido, como se observa en ciertas condiciones fisiológicas o patológicas. Es clásico el ejemplo de los salmones del Rhin, que durante la época del celo remontan el río sin tomar ningún alimento y consumen gran parte de sus masas musculares para fabricar las células germinales en gran cantidad: las proteínas musculares son evidentemente escindidas y, mientras los monoaminoácidos son empleados en gran parte con fines energéticos, una porción notable de los diaminoácidos son utilizados para construir las protaminas de que tan ricos son los productos sexuales. También los ácidos nucleínicos necesarios para la formación abundante de células germinales deben originarse evidentemente por fragmentación de otros edificios moleculares proteicos. Otro ejemplo es el de un enfermo en ayuno con gran secreción de catarro bronquial: también en este caso la mucina de la secreción debe ser construída con fragmentos de otras proteínas disgregadas. Por lo demás, en el ayuno, cuando cesa el aporte exógeno de aminoácidos, deben tener origen por este mecanismo, por una especie de demolición reconstructiva interna, muchas proteínas específicas que, sin embargo, continúan formándose por lo menos durante un largo período (células hemáticas, sexuales, epitelios y secreciones varias). Esta transformación interna de las proteínas unas en otras se realiza siempre con dispendio de aminoácidos: de un albuminoide determinado se forma cada vez una cantidad *menor* de proteína nueva

y distinta, porque las diferencias estructurales hacen que solamente una parte de los aminoácidos de la primera sean utilizables para la otra, y los no utilizables van a engrosar la porción combustible con fines dinamógenos solamente, como debe suceder con la mayor parte de los monoaminoácidos que se liberan en la fusión de los músculos del salmón. Se ve, pues, que aquí se repite lo que sucede en la transformación de las proteínas alimenticias en proteínas corpóreas, en las cuales la cantidad mínima de proteína necesaria en el régimen supera siempre a la verdadera cantidad teórica de desgaste. En el ayuno no desaparece nunca del todo la porción nitrogenada de los aminoácidos de la sangre: esta cantidad de aminoácidos que existe en la sangre hasta durante el ayuno, no es de origen alimenticio, sino que representa un material catabólico, procedente de la destrucción de las proteínas corpóreas; quizá en un primer tiempo se destruyen las proteínas de reserva, siempre escasas, de que ya hemos hablado en el párrafo anterior, especialmente si el ayuno sigue a un período de hipernutrición, y en un segundo tiempo se consumen verdaderas proteínas vivas, que son sacrificadas para satisfacer las necesidades energéticas o para reconstrucciones endógenas de substratos celulares más esenciales, a los que el organismo solamente puede renunciar *in extremis*. En todos estos procesos desintegrativos intervienen enzimas, *endoproteasas* contenidas en las mismas células. Si consideramos con atención el esquema precedente, comprenderemos mejor que con las explicaciones dadas en la Sección I de esta segunda Parte, el significado de la *cuota proteica de desgaste;* es aquella porción de las proteínas que debe proporcionar los bloques constructivos necesarios para restaurar los tejidos desgastados poco a poco por los procesos vitales. Añadamos que para que se realice esta fijación sintética de las piedras constructivas del edificio protoplasmático, son probablemente necesarios factores vitamínicos especiales (1). Comprendemos también por el mismo esquema, la gran *ley del equilibrio nitrogenado;* en el organismo que recibe la cantidad de proteína que basta para cubrir *por lo menos* las necesidades reconstructivas, el N introducido en forma de proteínas reaparece íntegramente y casi en seguida en las excreciones y secreciones, y si las entradas son poco o mucho superiores las salidas, crecen en proporción también con ellas, de manera que entra siempre una cantidad de N igual a la que sale. Si un día se ingieren, por ejemplo, 60 gr. de proteínas con 9,6 gr. de N, la salida de N (orina, heces, descamación cutánea, etc.) será también de unos 9,6 gr.; si se introducen 120 gr. de proteínas con 19,2 gr. de N, la cantidad de N excretado estará próxima a 19 gr., y así sucesivamente. Esto confirma que la proteína introducida en exceso sobre la mínima necesaria (que varía según el valor biológico de las proteínas, como se ha dicho en la Sección I) es integralmente metabolizada, exceptuando la adición eventual de aquellas pequeñas reservas que se obtienen por

(1) Bickel, *Klin. Woch.*, 1922, n.° 3.

la introducción forzosa de grandes cantidades, y es desintegrada rápidamente en el sentido del metabolismo exógeno, ya que los aminoácidos correspondientes son desaminados y desulfurados en seguida, el N eliminado principalmente en forma de urea, el azufre en forma de sulfatos y el residuo es utilizado como una cadena carbonosa de un ácido graso o de un azúcar cualquiera, es decir, almacenado precisamente como grasa de reserva o como glucógeno para las necesidades futuras, o bien quemado inmediatamente con fines energéticos.

Naturalmente, durante el desarrollo hay una eliminación de N inferior a la entrada porque se construye nuevo protoplasma, así como también hay un balance *positivo* en los períodos siguientes al ayuno, convalecencia, etc., cuando se deben reponer las masas protoplasmáticas consumidas. Por otra parte, además de los casos de ayuno, hay un balance negativo en los períodos de aporte alimenticio cuantitativamente o cualitativamente incompleto, también cuando algún factor patológico ataca a la integridad protoplasmática y produce una destrucción proteica (desintegración proteica por causa tóxica) que no puede ser superada por la aportación de albuminoides alimenticios.

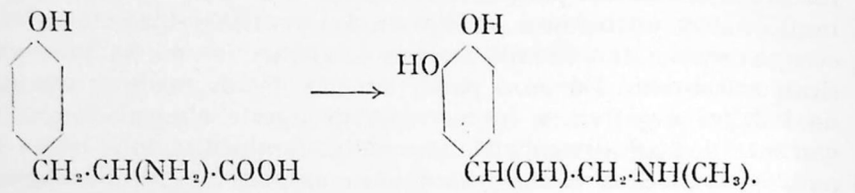
Veamos un poco más detenidamente cuáles son los procesos que intervienen en el metabolismo proteico mínimo, o sea, en otros términos, cómo el organismo utiliza los aminoácidos de la cuota proteica mínima, aun cuando las nociones sobre esta cuestión sean fragmentarias e inconexas.

Nos encontramos en primer término con la *cistina*, constituyente necesario de toda ración alimenticia de carácter proteico, porque es el único bloque constructivo sulfurado conocido con seguridad en las proteínas : en otros términos, se necesita cistina para construir todas o muchas proteínas sulfuradas, y son abundantemente sulfuradas y ricas en cistina las queratinas, ciertas escleroproteínas, etc.; el hecho, de observación vulgar, de la continua caída de células epidérmicas y pelos, que son formaciones organizadas muy ricas en queratinas, justifica la necesidad de un nuevo aporte de cistina. En la β-cristalina, una proteína del cristalino del ojo, hay la *cisteína*, más sencilla. También es necesario este aminoácido sulfurado para la construcción del glutation de Hopkins, quizá presente en todas las células respiratorias y que actúa como importante activador de la respiración interna, como ya hemos dicho en el capítulo VIII de la Sección II. Finalmente, la cisteína es la substancia madre de la *taurina* (por oxidación del sulfhidrilo a grupo sulfónico, seguida de descarboxilación) que debe encontrarse en la bilis, acoplada con el ácido colálico (ácido taurocólico).

También la *arginina* es un constituyente necesario de muchas proteínas corpóreas y tal vez puede proporcionar un punto de partida para la formación de histidina (1). La *arginina* y la *histidina* podrían ser después, según Hopkins y Ackrody (2), la base de la formación

(1) Felix, *Zeitschr. f. angew. Chemie*, vol. XXXV, pág. 273.
(2) *Bioch. Journ.*, vol. X, pág. 551, 1916.

de los cuerpos purínicos, constituyentes esenciales de los núcleos: es un hecho que las purinas se forman en el huevo en vías de desarrollo *ex novo*, a partir de otros materiales nitrogenados. Del grupo guanidínico de la arginina debe derivar después la *creatina*, de la cual volveremos a hablar. Las células del tejido llamado por los histólogos tejido cromafino, quizá fabrican, a partir de la *tirosina*, una hormona importantísima, la *adrenalina*, por un proceso de oxidación simultánea en la cadena lateral y en el núcleo, seguido de metilación y de descarboxilación en la cadena lateral:

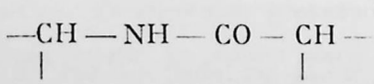


Se admite, según la teoría de Bloch (pág. 214), que los pigmentos melánicos también derivan de oxidaciones y condensaciones de cuerpos con núcleo fenólico (difenólico, con hidroxilos en posición orto, como en la pirocatequina), y precisamente de substancias del tipo de la *dioxifenilalanina;* pero nosotros hemos sostenido que en la construcción de las melaninas intervienen probablemente núcleos pirrólicos, y las proteínas podrían proporcionar estos núcleos, que existen en la *prolina* y la *oxiprolina.*

El *triptófano*, que además puede tomar parte en la formación de cuerpos coloreados, ha adquirido actualmente importancia en la génesis de la hormona tiroidea, la *tiroxina de* Kendall (pág. 210). La formación de esta hormona implica procesos de reducción y de adición de yodo en el ácido indolpropiónico, pues dicha tiroxina posee tres átomos más de H unidos al anillo indólico y contiene tres átomos de I que no existían en el ácido de referencia.

La *lisina*, como hemos dicho al tratar de la alimentación, es necesaria para el desarrollo de los mamíferos, al menos en aquellos con los cuales se ha experimentado, aunque no se sabe por qué.

Como observa Felix, tenemos pruebas, deducidas especialmente del análisis de las fórmulas de estructura, para admitir las derivaciones dichas, pero no tenemos pruebas directas; asimismo es sorprendente que no se consiga con la administración de tirosina o de triptófano aumentar la formación de adrenalina o de hormona tiroidea. Quizá se puede suponer que no son los aminoácidos puestos en libertad los que pueden utilizarse o transformarse, sino los incluídos todavía en la molécula proteica. En efecto, ésta está formada por una cadena de estructura.



como ya hemos visto, y las acciones modificadoras podrían afectar a los grupos laterales, emergentes — por decirlo así — del protoplasma pero aun conexionados con éste en la continuidad de la molécula proteica. Así, el núcleo del triptófano sería el que admitiría el yodo en la tireoglobulina (la proteína yodada de la substancia coloide del tiroides) y *luego* se liberaría en forma de tiroxina.

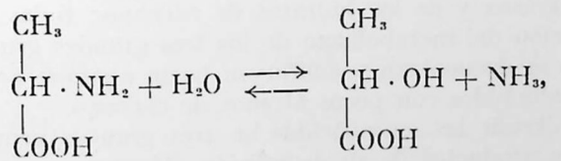
Si de los fenómenos constructivos pasamos a los desintegrativos, debemos distinguir con Folin, y según el esquema citado, la destrucción de las proteínas celulares o metabolismo endógeno de la destrucción de los aminoácidos no utilizados para la síntesis (no asimilados) y aprovechados, por el contrario, para fines energéticos. De la primera parte diremos algo en el apartado siguiente, cuando tratemos del origen de la creatina-creatinina; veamos ahora los datos más esenciales que se poseen acerca del modo cómo el organismo trata a los aminoácidos que exceden las necesidades plásticas, para degradarlos hasta llegar a las materias de desecho que finalmente se eliminan por la orina (metabolismo exógeno).

Los trabajos de Dakin (1), de Kossel (2), de Knoop (3) y otros autores (citados también en el capítulo VIII, de la Sección precedente) han aclarado mucho esta cuestión.

Las operaciones que ante todo sufren los aminoácidos son esencialmente la *desaminación*, esto es la separación del grupo NH_2 en forma de amoníaco, y la *descarboxilación*, o sea la pérdida de CO_2; el resultado es la formación de un ácido graso con un átomo menos de C que el aminoácido originario. Como se trata de un ataque oxidativo, podemos reproducir el curso total por la siguiente igualdad, donde R representa un radical cualquiera:

$$R — CH{\cdot}NH_2 — COOH + O_2 = R — COOH + CO_2 + NH_3$$

Pero, en realidad, entran en juego varias reacciones parciales sucesivas: ante todo, y según parece preferentemente en el hígado, el aminoácido experimenta la desaminación. Por lo regular este proceso *no* es de carácter hidrolítico, que conduciría al oxiácido respectivo; así con la alanina, no transcurre según la igualdad:



reacción posible sin embargo, y típicamente reversible que ya hemos citado como capaz de explicar la formación de aminoácidos a partir

(1) *Oxidations a. reductions*, Londres, 1922; *Journ. of biol. Chem.*, vol. XIV.
(2) Resumen reciente en *Naturwissenschaften*, 1922, n.° 47.
(3) Véase el capítulo precedente.

de oxiácidos, tales como el ácido láctico, derivable a su vez de los hidratos de carbono. Generalmente se trata de una *desaminación por oxidación*, o sea para la misma alanina:

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CH \cdot NH_2 \\ | \\ COOH \end{array} + O = \begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CO \\ | \\ COOH \end{array} + NH_3,$$

de la cual resulta un α-cetoácido (el pirúvico en este caso). Con la intervención de carboxilasas se obtiene ahora la pérdida del CO_2 con formación de un aldehido con un C de menos:

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CO \\ | \\ COOH \end{array} \xrightarrow{-CO_2} \begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ COH \end{array}$$

del cual es fácil, por una nueva oxidación, llegar al ácido graso correspondiente. Puede también pensarse que, interviniendo un receptor de hidrógeno adecuado, se realice la desaminación según el esquema de la reacción de STRECKER:

$$\begin{array}{l} R \cdot CH \cdot NH_2 \\ | \\ COOH \end{array} + H_2O + Receptor = R \cdot CHO + NH_3 + CO_2 + Receptor \cdot H_2$$

donde también se obtiene el aldehido inferior, oxidable a ácido.

Así, la demolición de los aminoácidos se verifica por pérdida de un átomo de C con formación de CO_2 y de NH_3. Los ácidos desaminados, y también los cetoácidos y cetoaldehidos que aparecen sucesivamente, siguen un destino análogo a los que derivan de la demolición de las grasas y de los hidratos de carbono: todos los procesos de desintegración del metabolismo de los tres grandes grupos de cuerpos orgánicos se encuentran y confluyen hacia algunos ácidos grasos, cetoácidos y aldehidos con pocos átomos de carbono.

Podemos dividir los aminoácidos en tres grandes grupos según el destino de los productos de su demolición. Algunos son *cetógenos* porque en el camino de su desmoronamiento encontramos un término que ya conocemos, el ácido acetacético, que, por reacción reductora colateral o por escisión, puede generar los otros dos cuerpos acetónicos; entre éstos se cuentan la leucina, la fenilalanina y la tirosina, que también dan cuerpos cetónicos en la circulación artificial a través del hígado, los dos últimos con apertura evidente del anillo bencénico

correspondiente. También lo son varios aminoácidos con número impar de átomos de C en cadena normal (no ramificada), porque en la reacción descrita en la página precedente pierden un átomo de C y dan un ácido graso con número par de átomos de C y, por lo tanto, cetógeno (véase capítulo precedente): así, según EMBDEN y MARX (1), es cetógeno el ácido α-aminovaleriánico (con 5 C), mientras que no lo son el α-aminocaproico y el amonibutírico (con 6 y 4 átomos de C respectivamente). Es evidente que después, a partir del ácido acetacético y por síntesis sucesiva y aposición de átomos de C de dos en dos, podrían construirse ácidos grasos superiores: pero los pareceres no son unánimes acerca de esta posible vía de formación de ácidos grasos superiores a expensas de las proteínas (véase capítulo precedente).

Tenemos después un segundo grupo de aminoácidos, que son *glucogenéticos*, o sea que aumentan la formación y la eliminación de glucosa en el organismo diabético y en el perro por la acción de la floridcina, como hemos visto en el capítulo III. Son éstos la glicocola, la alanina, la cistina, la serina, la prolina, los ácidos aspártico y glutámico, la arginina y la ornitina; éstos no se desintegran pasando por la etapa del ácido acetacético, sino por la de otros cetoácidos, tales como el pirúvico, capaces de entrar en el ciclo de los hidratos de carbono. Se debe a RINGER y a sus colaboradores un análisis munícioso de esta glucogénesis a expensas de los aminoácidos (2). Estos aminoácidos, en cuanto son productores de azúcar, son anticetógenos. Se comprende que estos dos grupos de aminoácidos, tanto si se convierten en cuerpos cetónicos como si adoptan la forma de glucosa, acaban por ser completamente quemados en el organismo normal, liberando toda la energía contenida en ellos.

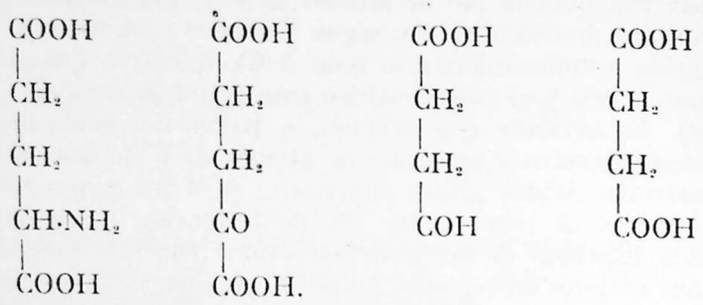
Finalmente, parece que existe un tercer grupo al que pertenecen la lisina y el triptófano, de los cuales ignoramos las vías de demolición con fines energéticos. En el perro el triptófano produce ácido quinurénico, citado en la página 207.

Debemos añadir algunas palabras acerca del metabolismo intermedio de algunos aminoácidos. La desaminación por oxidación del *ácido aspártico*, por ejemplo, da lugar a ácido cetosuccínico que, descarboxilado, produce ácido pirúvico, (y por lo tanto, un ácido glucogenético):

$$\begin{array}{l} COOH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CH \cdot NH_2 \\ | \\ COOH \end{array} \longrightarrow \begin{array}{l} COOH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CO \\ | \\ COOH \end{array} \longrightarrow \begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CO \\ | \\ COOH \end{array}$$

(1) *Hofmeister's Beitr.*, vol. XI, pág. 318.
(2) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XIV.

El *ácido glutámico* da, análogamente, ácido cetoglutárico, que por descarboxilación produce aldehido succínico y luego, por oxidación, ácido succínico:



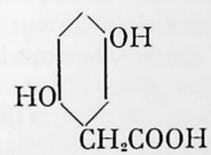
Nótese que, por el hecho de contener dos carboxilos, es posible en estos ácidos una acción oxidante distinta de la que actúa sobre el C que lleva el grupo amínico, es decir, en posición α respecto a *un* carboxilo: es posible, como para los ácidos grasos en general. el ataque del C en posición β respecto al otro carboxilo, por ejemplo del C señalado con un asterisco en la fórmula del ácido glutámico, expuesta en esta página. Estas dos vías de ataque oxidativo se identifican o coinciden en el ácido aspártico, porque el C que lleva el grupo NH_2 es *también* el C en posición β respecto al carboxilo más distante: he aquí, según KNOPP, una explicación de la gran oxidabilidad del ácido aspártico en el organismo.

La *arginina* es escindida en ornitina y urea por un fermento (arginasa) descubierto por KOSSEL y DAKIN en el hígado; la ornitina es atacada después (con formación de glucosa en el perro diabético) y la urea es eliminada. Se ha visto en los experimentos con grandes inyecciones que el hígado tiene tendencia a desdoblar toda la arginina que lo atraviesa con tal que este aminoácido esté libre, mientras que no lo ataca si está combinado como péptido. La arginasa es, pues, un fermento específico para la arginina *libre* y, según DAKIN (1) y según CLEMENTI (2), no es ninguna *deguanidasa* genérica capaz de separar el grupo guanidínico de cualquier substancia que lo posee, tanto que ni siquiera desdobla la creatina en urea y sarcosina. Ahora bien, si la arginasa hepática escinde solamente la arginina libre y *en su totalidad* significa, según FELIX, que una parte de la arginina, la que debe ser preservada de la destrucción para proporcionar (por ejemplo en los procesos de restauración) el núcleo guanidínico a las proteínas, no llega al hígado en forma libre, sino como combinación inatacable, o sea que el hígado no puede decidir sobre el destino de la arginina, sino que esto está a cargo de la pared intestinal. Según estas ideas, la

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. III, pág. 435.
(2) *Rendic. Accad. dei Lincei*, vol. XXIV, serie 5.ª, 1.er semestre, 1915.

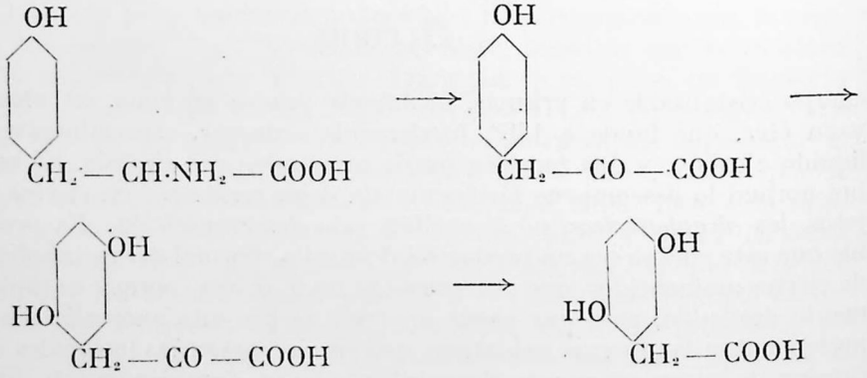
pared intestinal volvería a recobrar algo de la antigua dignidad sintética y selectiva que modernamente se le había negado, sobre todo cuando, a consecuencia de las investigaciones de ABDERHALDEN, se admitió que sólo la atravesaban los aminoácidos libres y se atribuyó al hígado el poder selectivo principal: parece, pues, que por lo menos la arginina *debería* pasar en forma de péptido. Hasta se ha llegado a aventurar la hipótesis de que, no obstante ser absorbidas la mayor parte de las proteínas alimenticias en forma de aminoácidos, un núcleo desconocido pasase a la sangre sin ser desintegrado, cuyo objeto sería servir después como centro de reconstrucción de los edificios moleculares específicos. Estas consideraciones tal vez son un poco arbitrarias, porque en el caso de la arginina presuponen que el hígado debe desdoblarla total y fatalmente *in vivo*, igual como en los experimentos de perfusión, sin tener en cuenta la posible intervención de muchos factores modificadores.

Una interesante *anomalía del metabolismo en el hombre* permite formarnos una idea por lo menos de un camino, que quizá no es el único ni el absolutamente obligatorio, seguido por *algunos aminoácidos con anillo bencénico* para su demolición. Se trata de la *alcaptonuria*, una anomalía por la cual los individuos afectos eliminan una orina que si se alcaliniza (hasta espontáneamente por fermentación amoniacal) ennegrece rápidamente en contacto del aire. En esta orina se encuentra un cuerpo fenólico, responsable del ennegrecimiento, el *ácido alcaptónico* u *homogentisínico*, que, como hemos dicho en otro lugar, es un ácido hidroquinonacético:



cuerpo cristalizable en prismas, fácilmente soluble en agua, en alcohol y en éter, que funde a 146°, fuertemente reductor, especialmente en líquido alcalino, y que también puede prepararse por síntesis. El hombre normal lo descompone fácilmente sin dejar residuos; en ciertos sujetos, los *alcaptonúricos*, no se verifica esta descomposición. Es probable que este cuerpo sea un producto intermedio normal del metabolismo de ciertos aminoácidos, que generalmente no se revela porque es rápidamente destruído, pero que puede aparecer si por una anomalía desconocida faltan las fuerzas oxidativas que en circunstancias normales son capaces de intervenir en esta etapa intermediaria. También en este caso, como en el de los cuerpos cetónicos, una *anomalía* del metabolismo, que consiste en una detención de las desintegraciones en un período que en condiciones fisiológicas es rápidamente recorrido, nos permite vislumbrar, aunque de una manera incompleta, unas fases importantes del metabolismo *normal*. Está demostrado que dando *per os* a un alcaptonú-

rico proteínas que contengan abundancia de núcleos aromáticos, aumenta la emisión de ácido homogentisínico, pero aun es más claro el aumento si se hace ingerir tirosina o fenilalanina ; también el individuo normal que ingiere grandes dosis de tirosina, como se desprende de las experiencias realizadas en sí mismo por ABDERHALDEN, puede eliminar pequeños indicios de ácido homogentisínico, porque evidentemente la sobrecarga de tirosina que hay que destruir conduce a una especie de retención de productos intermedios, que en otras ocasiones son eliminados sin dejar rastro. No se trata aquí de una anomalía de los procesos sintéticos, por ejemplo de una imposibilidad para fijar la tirosina de origen alimenticio, sino de una anomalía de las combustiones. Esto se demuestra por el hecho de que el plasma sanguíneo y los tejidos del alcaptonúrico contienen una cantidad normal de aminoácidos aromáticos ; es, pues, la tirosina liberada en los procesos de desasimilación la que generalmente origina el ácido homogentisínico ; la administrada en exceso en los experimentos de alimentación forzada seguirá, naturalmente, el destino de la endógena, o sea que se destruirá por la vía probablemente normal, pero quedará detenida en un punto que corresponde al ácido hidroquinonacético. Puede suponerse, por lo tanto, que en el metabolismo normal la tirosina pasa por las siguientes fases : primeramente experimenta la oxidación en el $C\alpha$ de la cadena lateral, formando ácido p-oxifenilpirúvico; éste sufre entonces una oxidación (difícil de explicar) del núcleo aromático, con adición de un hidroxilo y transposición del preexistente, con lo cual se forma un ácido hidroquinonpirúvico, y, por fin, hay pérdida de un átomo de C, o sea que se acorta la cadena lateral, quizá con descarboxilación y producción de un aldehido (aldehido hidroquinonacético), que luego se oxida y se convierte en ácido :



La alcaptonuria es frecuentemente hereditaria ; muchas veces no va acompañada de síntomas morbosos, pero a veces va asociada a la diabetes y sobre todo a formas de poliartritis crónica, con o sin una anomalía pigmentaria, la *ocronosis*. Esta consiste en la presencia en varios tejidos, especialmente el conjuntivo (fascias, ligamentos y en

particular cartílagos), de un pigmento amarillento, ocráceo, pardo o hasta negro. Es rara, pero característica la asociación de la alcaptonuria con *lesiones articulares*, a veces del tipo deformante, con abundante *infiltración de los cartílagos y ligamentos articulares* y *de otros tejidos (orejas azules) por el pigmento*. Es probable que el pigmento derive de una oxidación ulterior y condensación de los cuerpos alcaptónicos en substancias del tipo de las melaninas.

Los aminoácidos alcaptógenos son también cetógenos.

La *glicocola* se forma seguramente en el organismo por aminosustitución directa del ácido acético o de otros aminoácidos : cuando se administran grandes dosis de ácido benzoico, se forman enormes cantidades de glicocola destinadas a unirse con aquel cuerpo aromático y a quitarle la toxicidad (síntesis del ácido hipúrico con fines desintoxicantes).

Hemos dicho ya, que se sabe poco acerca del destino de la lisina : añadamos que hay una anomalía del metabolismo de los diaminoácidos que se llama *diaminuria*, caracterizada por la presencia en la orina de diaminas (pág. 188), *cadaverina* y *putrescina*, frecuentemente asociada a otra anomalía llamada *cistinuria*, que se caracteriza por la presencia en la orina de abundantes cantidades de *cistina*. Esta se encuentra en el sedimento en forma de tabletas hexagonales características que pueden constituir aglomerados, verdaderos cálculos pequeños, en las vías urinarias y puede dosificarse colorimétricamente por el método reciente de LOONEY (1). La cistina, como los demás aminoácidos, tiene normalmente un límite alto de oxidación, o sea que el cuerpo es capaz de quemarla en grandes cantidades, por lo cual puede ser ingerida en abundancia sin producir cistinuria. Las dos bases citadas nunca se encuentran en la orina normal. Se trata, pues, en estos casos de una alteración compleja del metabolismo de ciertos aminoácidos que son la *cistina*, la *lisina* (de los cuales deriva la cadaverina por descarboxilación) y la *arginina* (de la ornitina, componente de la arginina, deriva la putrescina por pérdida de CO_2) ; puede decirse que la anomalía afecta los grupos sulfurados y los básicos (diaminados) de la molécula proteica. En la cistinuria la orina puede contener 1,5-2 gr. de cistina pura al día, es poco ácida y a veces está un poco reducida la eliminación de urea. La cistinuria es frecuentemente hereditaria. Se ha descrito en casos rarísimos una verdadera diátesis cistínica, ya que los órganos internos estaban infiltrados de cistina. Se trata, según la opinión más corriente, de una especie de insuficiencia oxidativa para ésta y a veces para otros aminoácidos : en efecto, en alguna ocasión se encontró en los cistinúricos cierta dificultad para quemar otros aminoácidos administrados y se observó un aumento de la cantidad normal de aminoácidos urinarios, además de la correspondiente a la cistina, aun cuando otras veces (2) el trastorno era absolutamente específico.

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. LIV, pág. 171
(2) LOONEY y sus colaboradores, *Journ. of biol. Chem.*, vol. LVII, pág. 515.

Si la insuficiencia en la desintegración de los aminoácidos se extiende a los diaminoácidos, éstos escapan a la oxidación; pero como son fácilmente descarboxilados, se eliminan en forma de putrescina y de cadaverina: se presenta, pues, diaminuria, que, sin embargo, no siempre es secuela de la cistinuria, ya que estas anomalías pueden existir separadamente. El origen intestinal y de putrefacción de la diaminuria no es aceptado actualmente. Loewy y Neuberg (1) han practicado el interesante experimento de administrar diaminoácidos por vía bucal a un cistinúrico no diaminúrico: cuando el sujeto ingería arginina, se encontraba putrescina en la secreción urinaria, mientras que si el diaminoácido suministrado era la lisina, la orina contenía cadaverina. De estas anomalías del metabolismo intermedio de los aminoácidos no se deducen consecuencias clínicas dignas de mención.

Debemos añadir que no todas las proteínas metabolizadas llegan a escindirse completamente en aminoácidos: ante todo hay una porción de la cuota proteica de desgaste que abandona el organismo en forma de proteína completa (secreciones digestivas, productos sexuales, escamas epidérmicas, pelos, etc.) y, además, parte de las proteínas se escinde sólo en polipéptidos complejos, como los ácidos oxiproteínicos que aparecen siempre en la orina (el *urocromo*, pigmento amarillo normal, se incluye o está muy próximo a éstos) y que aumentan en los estados de destrucción exagerada de los tejidos, en la fiebre, etc. En condiciones patológicas, incluso aparecen en la orina albumosas y peptonas, es decir, productos de desintegración incompleta de las proteínas, que no han tenido tiempo, por haberse acelerado el ritmo de las escisiones proteicas, de llegar a un grado más avanzado de demolición (Sección IV). Los productos de este grupo, de carácter coloidal, con acentuada actividad batótona, son los que en los estados caquécticos, en el embarazo y en el curso de los tumores malignos constituyen los llamados *estalagmonas* urinarios de Bechhold, citados en la página 490, cuya acción sobre la sangre ha sido estudiada recientemente por Reiner y Morton (2).

Podemos también citar aquí la llamada *albumosuria* o *proteinuria de* Bence-Jones, que aparece durante la evolución de ciertos tumores de la médula ósea (mielomas): se trata de un cuerpo que coagula cuando se calienta la orina a unos 50°, que desaparece al seguir calentando hasta ebullición, que precipita con ácidos fuertes, aunque también en este caso desaparece si se calienta hasta hervir y (a no ser que se haya empleado un exceso de ácido) que reaparece con el enfriamiento. El origen parece ser (3) una destrucción anormal de proteínas en los focos neoplásicos, en la médula, o a veces en otra región del cuerpo, con eliminación sucesiva de esta especie de albumosa o «metapeptona» por la orina; su formación parece ser independiente del

(1) *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol XLIII.
(2) *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, vol. XXXVI.
(3) Folin y Denis, *Journ. of biol. Chem.*, vol. XXVIII, pág. 277.

metabolismo proteico general, ya que hasta prosigue durante el ayuno. En este caso se trata también de un complejo proteico o símilproteico que se sustrae, por lo tanto, a los procesos destructores, quizá porque se forma abundantemente y por su escasa atacabilidad comparada con la de las otras proteínas anormales (amiloide, etc.).

Los mismos aminoácidos no son destruídos en su totalidad: hay una *aminoaciduria fisiológica* (pág. 392), y el valor de esta porción de aminoácidos que escapa a los procesos de oxidación y pasa a la orina, tiene importancia como indicador de muchos procesos metabólicos. Los aminoácidos aumentan en la sangre, y, por lo tanto, en la orina, en todas aquellas condiciones en las cuales hay un exceso de destrucción proteica, como en la diabetes, en las caquexias graves (cáncer), en las enfermedades infecciosas, así como en las afecciones hepáticas, sea porque esté reducida la actividad funcional del hígado, que es el órgano central de la acción oxidante sobre los aminoácidos, sea porque en ciertos casos (atrofia amarilla aguda, envenenamiento por el fósforo) es precisamente en el hígado donde se desarrollan extensos fenómenos de verdadera autolisis intravital, con abundante destrucción de las proteínas de este órgano.

Un estudio interesante es el de los *compuestos de los aminoácidos con el formaldehido*, debido a Galeotti (1) y sus discípulos (2). Así como los aldehidos reaccionan fácilmente con los grupos imínicos o amínicos, también reaccionan con los aminoácidos; el formaldehido, en particular, forma compuestos que, gracias a la aptitud polimerizadora del aldehido, tienen un gran peso molecular y hasta acaban por presentar propiedades coloidales. Parece demostrado que los aldehidos ejercen funciones polimerizantes y condensadoras en los procesos sintéticos de las plantas, y, por lo tanto, es muy razonable la idea de Galeotti de comprobar si estos compuestos por condensación de los aminoácidos con el formaldehido pueden tener alguna función importante en el metabolismo de los animales.

Galeotti describe sus productos como masas resinosas o vítreas, amarillo-pardas, de reacción ácida (derivados de la glicocola, de la alanina, tirosina, fenilalanina, etc.). En general, se aproximan a los compuestos clásicos obtenidos por polimerización de los aminoácidos (polipéptidos); pero se diferencian profundamente de ellos porque las moléculas de los aminoácidos combinados con el formaldehido no están ligadas como en los polipéptidos por una unión aminocarboxílica; a causa de esto, los productos citados no son atacados por las enzimas proteolíticas. Parece, sin embargo, que estos compuestos pueden participar en el metabolismo de los animales y, finalmente, servir quizá para la reconstrucción de los protoplasmas celulares: así el organismo podría formar ácido hipúrico a partir del ácido benzoico y

(1) *Bioch. Zeitschr.*, vol. LIII, n.° 6.
(2) Cicconardi Gaetano, *Rend. Acc. dei Lincei*, vol. XXIV, serie 5.ª, 1 er semestre, 1915; Azzi, *Sperimentale*, vol. LXIX, fasc. 1.°

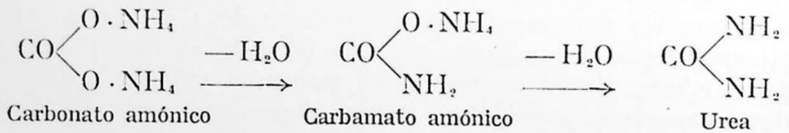
del compuesto de glicocola con formaldehido (CICCONARDI G.) y, cosa más dudosa, resistir durante tiempo con un régimen cuyo N se encontrase exclusivamente en forma de estos compuestos (AZZI).

c) FORMACIÓN DE LA UREA.

Hemos visto cómo en la desintegración de los aminoácidos, que el organismo lleva a cabo para utilizar su valor energético, se liberan NH_3 y CO_2; según la opinión más corriente, el CO_2 y el NH_3 que así quedan libres reaccionan entre sí, con formación terminal de urea, destinada a la eliminación. La urea es el producto cuantitativamente más importante del metabolismo proteico: más del 80 % del N urinario y, con un balance de N a la par y con pequeñas pérdidas fecales, casi la misma proporción del N metabolizado está representado por la urea. El hombre elimina, según la riqueza del régimen en albuminoides, de 15 a 40 gr. de urea por día.

Pero no es aún bien conocido el proceso exacto por el cual se forma la urea, y no haremos aquí más que citar las opiniones fundamentales.

Cuando se calienta carbamato amónico, se produce urea por simple pérdida de una molécula de agua; a su vez el carbamato amónico deriva del carbonato amónico por pérdida de otra molécula de agua:



Carbonato amónico — Carbamato amónico — Urea

La urea podría también formarse en el organismo a expensas del carbonato amónico originado por la combinación del amoníaco con el ácido carbónico, y mediante deshidrataciones sucesivas; el carbamato amónico sería un cuerpo intermedio en la producción de urea a expensas del carbonato amónico. En realidad, la inyección en animales de carbonato, formiato, lactato o carbamato amónicos, produce siempre un notable aumento de la eliminación de urea; administrando citrato amónico a un perro por ingesta o por vía subcutánea, no se obtiene ninguna disminución de la acidez urinaria, como se produciría si se introdujese un citrato alcalino (porque todos los ácidos orgánicos se queman y dan ácido carbónico, por lo cual las sales de sodio o potasio respectivas se eliminan en forma de carbonatos alcalinos, que alcalinizan la orina), ni se observa un aumento notable del NH_3 urinario, sino que hay un aumento de urea en proporción tal que contiene *todo* o *casi todo* el N introducido en forma de citrato amónico.

Está comprobado, por lo tanto, que el amoníaco exógeno es transformado en urea, y es probable que el que se origina en el metabolismo también sufra la misma suerte *(teoría de* SCHMIEDEBERG acerca de la génesis de la urea); tanto es así, que todas las causas que por una razón u otra aumentan la formación de amoníaco, reducen la de urea, y viceversa: la intoxicación por ácidos exógenos o endógenos presenta la doble *característica urológica de aumento del* NH_3, que el organismo produce evidentemente en mayor cantidad para neutralizar el ácido, y de *disminución de la urea*, como si hubiese quedado de este modo menos NH_3 disponible para su formación.

Ha sido especialmente la escuela rusa de PAVLOW y sus discípulos la que ha puesto en evidencia el cuadro experimental de la llamada *intoxicación por la carne* (hiperestesia, amaurosis, ataxia, calambres y, finalmente, coma) en los perros operados de fístula de ECK (unión de la porta con la cava para impedir que la sangre que afluye de la porción infradiafragmática del tubo digestivo pase por el hígado) y alimentados con carne. Estos experimentos han demostrado que en los perros así tratados se reduce la formación de urea y hay un gran aumento de carbamato amónico en la sangre y en la orina, de los que normalmente sólo contienen indicios (DRECHSEL). Se ha comprobado luego la toxicidad de los carbamatos introducidos directamente en las venas y la casi inocuidad de estas sales administradas por la boca a perros con circulación hepática normal, y se ha visto, además, que la administración oral de carbamatos conduce al aumento de la formación de urea; todos estos hechos han conducido a la teoría de DRECHSEL, que es una modificación de la de SCHMIEDEBERG, y que admite que el carbamato es un período forzoso por el que pasa el amoníaco procedente de la desaminación de los aminoácidos o de las putrefacciones intestinales, para convertirse en urea. El cuadro de la intoxicación cárnea en los perros con circulación, y, por lo tanto, con función hepática reducida, sería debido a que el organismo está inundado por productos amoniacales y especialmente por carbamatos, porque se ha hecho insuficiente la función, verdaderamente protectora, del hígado, que consiste en fijar el carbamato y construir con él urea, que se elimina rápidamente por la orina.

Este cuadro experimental ha sido profundamente estudiado hace pocos años por FISCHLER (1): este autor advierte que no siempre es fácil reproducirlo, y que solamente debe admitirse cuando el examen anatómico es completamente negativo. No debe confundirse con otros cuadros experimentales, por ejemplo con el de necrosis masiva del hígado (por narcosis clorofórmica, hidracina, isquemia transitoria del hígado, etc.), en el cual dominan los fenómenos hemorrágicos en el tubo digestivo y en otros lugares (encías). FISCHLER encuentra que la intoxicación por la carne en los perros con fístula de ECK se produce mucho más fácil y regularmente si se ha privado al hígado de glucógeno por la floridcina; el contenido normal en hidratos de carbono del órgano contribuye, pues, a ayudar a éste, aunque se halle debilitado en su funcionamiento por la anormalidad circulatoria, a eliminar grandes cantidades de productos desintegrativos de la carne, que inundan el organismo.

(1) Op. cit. en los dos capítulos precedentes.

Fischler interpreta el cuadro citado como una *alcalosis*, es decir, como una acumulación excesiva en el organismo de productos amoniacales alcalinos no fijados ni elaborados suficientemente por el hígado, por el cual ya no pasa la sangre que refluye del intestino.

Todas estas investigaciones vienen a evidenciar la importancia de este órgano en la formación de la urea ; sería el hígado el que elaboraría urea a partir de los productos amoniacales, del carbamato y también, y quizá principalmente, del NH_3 que proviene de la desaminación de los aminoácidos. En apoyo de esta teoría existen las antiguas experiencias de Salaskin (1), según el cual la inyección de aminoácidos en el hígado aislado conduce a la formación de urea, y las de Schröder (2), quien encontró que la inyección con sales amoniacales de ácidos orgánicos produce también el mismo resultado. Sin embargo, no existe un acuerdo completo acerca de la exclusividad del hígado en esta función ureo-formadora ni acerca de la extensión de esta función. Folin y Denis (3) han comprobado que en la sangre portal hay más amoníaco que en la sangre venosa, y que el amoníaco de aquélla procede en gran parte del intestino grueso y es de origen putrefactivo y bacteriano ; dichos autores admiten, por lo tanto, que el hígado puede fijar este amoníaco y servirse de él para formar urea, con un verdadero fin desintoxicante. Por el contrario, Folin y Denis niegan que el hígado sea el único órgano desaminador de los aminoácidos y que de *éstos* forme urea, pues dicen haber comprobado la rápida distribución de los aminoácidos inyectados en la sangre por todos los tejidos, en donde quedarían almacenados en forma de « depósito de N » y serían utilizados poco a poco con formación de urea de los radicales aminados. Fiske y Karsner (4) llegan aún más lejos y, aun reconociendo que el hígado sobreviviente de gato y de conejo puede fabricar urea a partir del carbonato amónico de inyección, niegan que pueda formarse urea a expensas de la glicocola y, administrando aminoácidos por vía endovenosa, encuentran que su acumulación en la sangre y en los tejidos es igual tanto si el hígado está excluído de la circulación como si posee sus relaciones normales. También Scaffidi (5) ha visto en las aves que la supresión de la circulación hepática no va acompañada de un descenso en la formación de urea, y niega la importancia preponderante del hígado en la ureogénesis. Perroncito ha llegado a resultados opuestos, pero no claramente comparables, aunque son más utilizables en Fisiopatología humana porque han sido obtenidos en mamíferos ; este investigador ha demostrado que la extirpación del hígado a un perro reduce generalmente la concentración de la urea de la sangre (6).

(1) *Zeitschr. f Physiol Chem.*, vol. XXV, pág. 128.
(2) *Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol.*, vol. XV, pág. 364.
(3) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XI y XII.
(4) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XVI y XVIII.
(5) *Arch. Scienze biol.*, vol. III, 1922.
(6) *Bull. Sic. méd.-chir. Pavía*, año XXXVI, fasc. 1.°, 1924.

Hay otra teoría acerca de la génesis de la urea, que admite que la urea puede tener su origen en fenómenos de *oxidación directa* de los aminoácidos, seguida de *síntesis*. Hofmeister ha demostrado que la urea puede formarse realmente oxidando proteínas con permanganato en presencia de amoníaco. En tal caso el grupo

$$\equiv C - NH_2$$

del aminoácido sufriría directamente una *oxidación*, por la cual el C sería transformado en grupo CO, y una *síntesis*, pues otro N se uniría al C, y a expensas del aminoácido se habría formado el grupo característico de la urea :

$$\begin{matrix} & NH_2 \\ & / \\ CO & \\ & \backslash \\ & NH_2. \end{matrix}$$

A decir verdad, en la teoría de Schmiedeberg y de Schmiedeberg y Drechsel se admite implícitamente una síntesis : la unión de un átomo de C del CO_2 con el N del amoníaco para formar carbonato y carbamato amónicos es una verdadera síntesis, a la que sucedería, según este criterio, una deshidratación. Por el contrario, según la teoría de Hofmeister, la oxidación es el factor dominante, y se trata precisamente de una oxidación directa del C enlazado al único N del animoácido. Serían favorables a la teoría de Hofmeister las investigaciones de Scaffidi y Girone (1) : estos autores comprobaron que, cuando se disminuyen los procesos oxidativos manteniendo al animal en un ambiente pobre en O_2 y rico en CO_2, disminuye el N urinario tanto de la porción ureica como de la amoniacal y permanece constante el N total : habría, pues, un obstáculo al desarrollo de las desintegraciones proteicas y, por lo tanto, a la formación sintética y oxidativa de la urea ; el metabolismo proteico conduciría solamente hasta productos de demolición menos avanzados. También en los perros con fístula de Eck, alimentados con carne y sometidos a la acción de la floridcina, Fischler ha observado una notable reducción *simultánea* de la urea y del NH_3.

Esta última teoría ha sido, por decirlo así, resucitada y modificada recientemente por Werner (2), que admite una fórmula cíclica de la urea :

$$NH = C \begin{matrix} NH_3 \\ | \\ O \end{matrix}$$

(1) *Sperimentale*, vol. LXIV, fasc. 4.°, 1910.
(2) *The chemistry of urea*, Longmans, Londres, 1923.

y que, reanudando las antiguas y célebres observaciones de WÖHLER, según el cual la urea se forma calentando isocianato amónico:

$$CON{\cdot}NH_4 \rightleftarrows CO(NH_2)_2,$$

cree que la urea se forma también en el organismo a partir del ácido ciánico. El ácido ciánico, y no el NH_3, sería el producto terminal de la descomposición proteica por la influencia de las fuerzas oxidativas del organismo; el ácido ciánico, por hidrólisis a la temperatura del cuerpo, puede ser descompuesto precisamente en urea y en CO_2:

$$2HNCO + H_2O = CO_2 + CO(NH_2)_2$$

Según estas ideas de WERNER, no es necesaria, como en la teoría precedente, la formación de amoníaco; los grupos carbonitrogenados de la molécula proteica son oxidados directamente hasta ácido ciánico, y una simple hidrólisis realiza el resto: la adición de un N de más al carbono. El hecho de que la formación de urea a expensas del ácido ciánico ya se realiza a la temperatura del cuerpo, mientras que la del carbamato o del carbonato amónicos exige altas temperaturas, sería un argumento en favor de la concepción de WERNER, que debería hacer cambiar, sin embargo, varias de nuestras ideas acerca del metabolismo. Sea como fuere, queda siempre como probable que el hígado desempeñe un papel, que por lo menos es notable, en la génesis de la urea, y que el amoníaco por un lado y los aminoácidos por otro, originan urea por procesos en los cuales intervienen fenómenos sintéticos (adición de uno o dos N a los átomos de C). El experimento claro y sencillo de LEWIS (1) es bastante demostrativo: la inyecc ón lenta y continua de glicocola en las venas del perro, aumenta pronto la eliminación de urea por la orina.

Hay que recordar un hecho que hemos ya repetido varias veces: una *pequeña parte* de la urea tiene su origen en la escisión hidrolítica de la arginina por acción de las arginasa, enzima abundantemente difundida en los tejidos animales. En la arginina tenemos en forma de guanidina el núcleo:



característico de la urea; éste es el único aminoácido en el cual este núcleo existe preformado.

La urea es muy difusible: MARSHALL y DAVIS (1) han visto que inyectando grandes dosis de ella en la sangre aumenta uniformemente

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XXXV, n.° 3, 1918.
(2) *Journ. of. biol. Chem.*, vol. XVIII, n.° 1.

en ésta y en todos los órganos. Las células del cuerpo son capaces de fijar grandes cantidades de urea: su distribución uniforme por todos los tejidos es completa a los 15-18 minutos después de terminada la inyección endovenosa. Normalmente se encuentran en el perro 25-33 miligramos por 100 gr. de tejido (o por 100 cc. de sangre); la grasa contiene menos (5-6 mgr.) y el riñón mucho más (183-221 mgr.), ya que es el órgano de eliminación electiva y preponderante (también la piel elimina urea con el sudor). Las grandes dosis de urea son tóxicas, siendo la dosis mortal para el perro de 10 gr. por kilogramo de peso corporal: los síntomas del envenenamiento por la urea son la parálisis vascular periférica, vómito, sacudidas musculares y convulsiones, pero no la diarrea. La urea pasa a la orina con gran rapidez y hasta tiene una acción propiamente diurética.

Para terminar, diremos que un órgano transitorio importante en el metabolismo de las proteínas, y quizá en la formación de la urea, es la placenta: HAMMET (1) ha supuesto una función ureoformadora de la placenta, y HARDING y FORT (2), habiendo encontrado como característico de la placenta una gran riqueza en arginina, dicen que podría pensarse que en ella estuviese especialmente acentuada la ureogénesis por hidrólisis de la arginina. MARSCHALL y DAVIS (3) encontraron más tarde que la urea está aumentada en la placenta de mujeres con varias formas de toxicosis gravídica: es probable que esta riqueza en urea tenga cierta relación que hoy no podemos precisar todavía, con las alteraciones del metabolismo nitrogenado en estas mujeres.

d) Formación y metabolismo normal y patológico de la creatina y de la creatinina.

Mientras que la urea (véase esquema de la pág. 617) es el producto nitrogenado principal del metabolismo exógeno de las proteínas, y su formación y eliminación se realiza de una manera claramente paralela a la entrada de proteínas alimenticias, la creatina y la creatinina están en relación con el metabolismo endógeno (FOLIN) de las proteínas, o sea con la desintegración de las proteínas de los tejidos, y son, por lo tanto, ampliamente independientes del aporte proteico alimenticio. Según las investigaciones de MC COLLUM y HOAGLAND (4) acerca del metabolismo endógeno del cerdo, se encuentran, por lo menos en este animal (omnívoro), dos tipos de metabolismo endógeno de las proteínas: uno, influenciado por los ácidos minerales y por el ácido benzoico introducido, en el sentido de que la inyección abundante de estos materiales provoca una abundante formación de NH_3 para neutralizar los primeros y de glicocola para fijar el segundo (con síntesis de ácido hipúrico), y otro, que tiene por término la creatinina

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XXXVII, 1919.
(2) *Id.*, vol. XXXV, 1918.
(3) *Id.*, vol. XXXIV.
(4) *Id.*, vol. XVI, pág. 299.

urinaria, y que efectivamente no se modifica por intervenciones alterantes como las citadas.

Debemos exponer aquí brevemente los hechos fundamentales adquiridos acerca de la *génesis* y el *significado* de la *creatina* y de la *creatinina*.

Así como la creatinina se encuentra en la orina, en el músculo se halla la mayor parte de la creatina del cuerpo. El músculo contiene (véase también Parte I, pág. 192) de 450 a 550 mgr. de creatina por 100 gr. de substancia fresca (gato, conejo), mientras que la sangre sólo contiene unos 8-10 mgr. por 100 cc.; el hecho de que el músculo sea 40-50 veces más rico en creatina que la sangre es ya una prueba de una aptitud especial del músculo para retener esta substancia y de una relación íntima entre ésta y el protoplasma muscular, como hacen notar FOLIN y DENIS (1). La urea, como hemos dicho, tiene un comportamiento distinto y se reparte de una manera uniforme entre los tejidos y la sangre, precisamente porque no tiene una afinidad electiva más que para el órgano de excreción, el riñón.

En el hombre se eliminan de 1,5-2 gr. de creatinina (anhídrido de la creatina que, como veremos, es el ácido metilguanidinacético) con la orina de 24 horas; este cuerpo contiene cerca del 3,5 al 4,8 % del N urinario y después de la urea, y con poca diferencia respecto al NH_3, es el constituyente nitrogenado cuantitativamente más importante. Puede decirse que en el adulto se segregan 20-30 mgr. de creatinina al día por kilogramo de peso corporal, un poco menos en la mujer y menos aun en el niño sometido a dieta láctea. La eliminación de creatinina no está en relación con el régimen alimenticio; solamente en pequeña parte procede de la creatina de la carne muscular ingerida, porque vemos que continúa eliminándose en cantidad aproximadamente igual o poco disminuída (17-24 mgr. por kilogramo de peso al día) con dietas exentas de carne y de todo material que contenga creatina, y hasta en el ayuno se observan eliminaciones constantes de creatinina, que ascienden, por ejemplo, según VAN HOOGENHUIZE y VERPLOEGH (2) de 0,4 a 0,7 gr. al día en una ayunadora profesional. Por lo tanto, debe considerarse que la creatinina urinaria está en relación con la creatina de las masas musculares, aun cuando no sean claras las circunstancias exactas y el mecanismo de transformación de ésta en aquélla. En efecto, en varios experimentos se ha visto que la creatina ingerida *per os* no aumenta o aumenta poco la cantidad de creatinina urinaria, y se ha planteado la cuestión de cómo la creatina muscular podía pasar a creatinina si la creatina exógena parecía escapar a esta transformación. Sin embargo, luego se ha visto que la creatina administrada *per os* es destruída en gran parte por las bacterias del tubo digestivo (3). Entonces se trató de averiguar si las inyecciones de creatina en la

(1) *Journ. of biol Chem.*, vol. XVII, pág. 493.
(2) *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. LVII, pág. 161.
(3) TWORT y MELLAMBY, *Journ. of Physiol.*, vol. XLIV, pág. 43.

sangre aumentaban la creatinina urinaria, y mientras PEKELHARING y VAN HOOGENHUIZE (1) obtenían un resultado positivo, FOLIN y DENIS (2) lo obtenían negativo en el sentido de que la creatina inyectada desaparece por absorción en los músculos. MYERS y FINE (3) encontraron que en varias especies animales hay una relación constante entre la creatina muscular y la creatinina urinaria, y adujeron este hallazgo como argumento en favor de la transformación de una fracción constante de creatina en creatinina.

Admitida así con toda verosimilitud y de acuerdo con su gran analogía química, la dependencia genética de la creatinina urinaria respecto a la creatina muscular, podemos decir ahora que en el metabolismo del músculo, y quizá también (para apenas el 2 % de la creatina total) de otros protoplasmas, se forma creatina que poco a poco es capaz de separarse, pasar a la circulación, transformarse (no se sabe dónde, tal vez en el hígado o en el riñón; según FOLIN y DENIS, parece cierta la existencia de enzimas catalizadoras de esta transformación, admitidas por GOTTLIEB y STANGASSINGER) (4) en creatinina y ser eliminada como tal. ¿Pero cómo puede originarse la creatina? La opinión más corriente es que deriva del núcleo guanidínico incluído en la arginina; pero no existen argumentos precisos para demostrarlo, no se ha conseguido probar la existencia de productos intermedios como el ácido guanidinacético, ni demostrar la formación de creatina en la irrigación del músculo con productos de este tipo. Algunos autores americanos creen que la arginina puede ser o dejar de ser fuente de creatina según que esté sujeta a ataques oxidativos que liberan el núcleo guanidínico intacto, o bien a la acción de la arginasa que libera dicho grupo en forma de urea. La arginasa sería el sistema enzimático que se opone a la formación de la creatina (5). Se deben a RIESSER (6) muchos trabajos acerca de este particular; este investigador cree últimamente que la síntesis de la creatina se hace mediante la urea y la colina con liberación de alcohol metílico; en realidad, la inyección de colina produciría un aumento notable de la creatina muscular. Según datos recientes de STUBER (7) la metilación de los derivados metabólicos del tipo del ácido guanidinacético, con formación de creatina, debería tener lugar en el tiroides: la inyección de aquel ácido al conejo produciría un aumento de creatina en la sangre, pero no la produce en el conejo tiroidectomizado; de comprobarse este hecho habría que considerar al tiroides como un órgano de metilación y suponer que posee cierta influencia sobre el músculo.

URANO (8) ha demostrado el hecho interesante de que en el músculo

(1) *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. LXIX, pág. 395.
(2) Loc. cit.
(3) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XV, pág. 283.
(4) *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. LII.
(5) GROSS y STEENBOCK, *Journ. of biol. Chem.*, vol. XLVII, pág. 45.
(6) *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. LXXXVI, XC, CXX.
(7) *Klin. Woch.*, 1923, n.° 20.
(8) *Hofmeister's Beitr.*, vol. IX.

fresco la creatina no es dializable; en cambio, se transforma en dializable después de la cocción o trituración del músculo: quizá (Bürger) la creatina se halla en el músculo en forma de una especie de substancia madre o *creatinógeno*, que libera creatina fácilmente difusible por efecto de varias intervenciones más o menos alterantes, como, por ejemplo, la permanencia a baja temperatura.

Un hecho importante es que la creatinina se encuentra en la orina en cantidad variable de unos individuos a otros según su constitución respectiva y en *relación con el desarrollo de las masas musculares;* además es constante durante años en cada individuo: el coeficiente creatinínico (número de miligramos de creatinina urinaria por kilogramo de peso corpóreo) es una verdadera medida constitucional y depende de la participación que tiene la musculatura en el peso total del cuerpo (1). Esta ley ha sido confirmada por pediatras, que encontraron coeficientes creatinínicos altos en niños musculados (hasta 40), bajos en niños de constitución fofa con diátesis exudativa. Se explica también por qué en las mujeres, cuyas masas musculares son menos desarrolladas, se encuentran eliminaciones creatinínicas menores que en el hombre, y en los individuos en cama, con músculos atróficos, son menores que en los individuos activos y con músculos bien desarrollados. El conjunto de estas observaciones confirma la dependencia de la creatinina urinaria respecto a la creatina muscular.

Será oportuno dar aquí un resumen de la *teoría de* Pekelharing sobre la relación entre el tono y la creatina musculares: la creatina aumentaría en el músculo en todos los casos en que hay aumento del tono muscular; sería expresión de un metabolismo muscular especial en relación con la contractura tónica, y el tono dependería a su vez de la inervación simpática (Perroncito, De Boer). Todo lo que aumenta el tono muscular haría subir la concentración de creatina en el músculo, así como también la aumentarían todos los venenos (adrenalina, veratrina, nicotina, $CaCl_2$) que excitan el simpático. De una manera típica produciría el aumento de creatina en los músculos la «rigidez por descerebramiento» obtenida por el corte de Sherrington practicado en los tubérculos cuadrigéminos posteriores.

Hay que observar que hay opiniones discordes con esta concepción: ante todo ni siquiera se sabe definir el tono muscular ni es cierta su dependencia del simpático o, como quieren algunos, del parasimpático (se habla hasta de una triple inervación del músculo voluntario: la simpática *antitónica*, la parasimpática *tónica* y la voluntaria y discontinua o *fásica)*, y no todas las investigaciones son favorables al concepto de la relación constante entre el estado del tono y la riqueza en creatina. Así, por ejemplo, en el músculo liso la concentración de creatina es escasa a pesar de existir perfectamente el estado tónico. Son también adversas a la teoría de Pekelharing las recientes investigaciones de Dusser De Barenne y Cohen Tervaert (2),

(1) Bürger, *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. IX, fasc. 4.°, 1919.
(2) *Pflüger's Arch.*, vol. CXCV, 1922.

quienes más bien encontraron aumento de la creatina después de la actividad fásica o voluntaria del músculo.

He aquí otro punto muy discutido: si el *trabajo muscular*, llevado eventualmente hasta la fatiga, conduce a un aumento de la creatina muscular y, por lo tanto, de la creatinina urinaria. Sobre el primer punto hay varias contradicciones, porque durante el trabajo el músculo está mejor irrigado (basta pensar en el número enorme de capilares que, como ha demostrado Krogh, se hacen permeables y se llenan de sangre, los cuales en el reposo — o sea mientras sólo subsiste la actividad tónica — quedan vacíos) y, por lo tanto, cierta cantidad de creatina producida puede ser arrastrada por la sangre y no aparecer en el análisis. Scaffidi (1) ha encontrado que la creatina de los músculos no experimenta modificaciones dignas de notarse por efecto del trabajo, y que tampoco aparece creatinina (en la rana).

También existen algunas incertidumbres acerca del segundo punto: recordaremos que Scaffidi (2) ha encontrado que la creatininuria fisiológica aumenta y puede encontrarse creatinuria en la fatiga; en opinión de Schulz (3), debe admitirse generalmente un aumento de la creatinina urinaria si se fracciona la orina diaria y se examina la de los verdaderos períodos de trabajo, pues de otra manera, con la dosificación en la orina total de 24 horas, puede no aparecer el aumento, porque hay una eliminación menor durante las horas de reposo. Parece que existe una especie de ahorro de creatinina en los períodos de reposo que alternan con los de trabajo, ahorro que compensa y hasta sobrecompensa la hipercreatininuria consecutiva al trabajo.

Hasta ahora hemos hablado de creatinina en la orina. Pero a veces puede haber también *creatina en la orina*, o sea, además de la creatininuria acostumbrada, una *creatinuria*. En otros términos, hay casos en los cuales llega a la orina no sólo el producto de deshidratación ordinario como es la creatinina, sino la misma creatina. Hay ejemplos fisiológicos de creatinuria: así, el niño presenta creatinuria hasta que llega poco más o menos a los 12 años. En efecto, el niño elimina rápidamente e inalterada la creatina que se le inyecta, como si no pudiese fijarla ni convertirla en su anhídrido. En la orina de las mujeres se encuentra creatina durante y después de la menstruación, en el embarazo avanzado, durante el puerperio y la lactancia; se admite que este fenómeno está relacionado con las modificaciones de la musculatura uterina, con su involución, por ejemplo en el puerperio; pero la musculatura del útero contiene poca creatina (por lo menos preformada y determinable por el análisis) y, por otra parte, no se observan modificaciones notables del miometro durante la menstruación. Todas estas cuestiones permanecen aún en la oscuridad. Ya hemos dicho que Scaffidi ha observado creatinuria producida por la fatiga.

(1) *Bioch. Zeitschr.*, vol. L, pág. 402.
(2) *Sperimentale*, año LXIV, 1910.
(3) *Pflüger's Arch.*, vol. CLXXXVI.

Patológicamente se ha encontrado creatinuria en las lesiones destructivas de la musculatura: según BÜRGER (1) hay creatinuria siempre que existen alteraciones regresivas de los músculos como atrofias rápidas, triquinosis, etc., pudiendo ser dicha creatinuria con o sin aumento de la creatinina o hasta con disminución de ésta : así, en la triquinosis el coeficiente creatinínico total (suma de creatina + creatinina) es normal; pero una buena mitad de los cuerpos de este grupo, está compuesta por creatina, como si el organismo hubiese perdido la facultad de transformar la creatina en el anhídrido correspondiente, facultad que, por lo tanto, parece corresponder a la musculatura. Es notable que en los síndromes amiostáticos consecutivos a encefalitis y también en las formas con rigidez y fijeza acentuadas, BÜRGER ha encontrado que los cuerpos creatínicos tenían mayor tendencia a disminuir que a aumentar, mientras que en las formas con temblores y agitación motriz se notaba un claro aumento; he aquí, según él, una observación contraria a la teoría del tono de PEKELHARING.

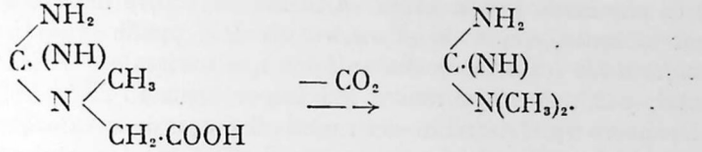
También en la fiebre hay generalmente aumento de la creatinina y aparición de creatina: *hipercreatininuria* y *creatinuria febril*. Como sea que también se ha observado creatinuria en el ayuno, se ha querido relacionar el aumento en los casos febriles con el estado de inanición a que generalmente está sometido el organismo. Pero las investigaciones practicadas por BÜRGER (2) han probado que hay creatinuria e hipercreatininuria hasta en las fiebres de breve duración, como, por ejemplo, en los ataques de terciana, por lo cual cabe pensar que su origen se debe a la destrucción *por una causa tóxica* de las proteínas musculares. RIESSER ha demostrado directamente el aumento de creatina en los músculos de animales en los que se había provocado la aparición de fiebre inyectándoles tetrahidronaftilamina.

La orina de los diabéticos es muy rica en cuerpos creatínicos: se han encontrado de 3 a 7 gr. en 24 horas. Se trata muchas veces de creatinurias intensas con hipercreatininuria mayor o menor; en la diabetes la creatinuria es, como la cetonuria, una compañera constante de la acidosis, y existe una verdadera creatinuria endógena en relación con el desarrollo de las masas musculares y que depende de los procesos que en ellas se desenvuelven. Quizá la creatina de la diabetes pueda tener también otro origen, que sugieren las citadas investigaciones de RIESSER: en la lipoidemia diabética intervienen fosfátidos, cuya colina podría, reaccionando con la urea, dar origen a la creatina.

En los hipotiroideos está reducida la creatinina urinaria; con la tiroidina se obtiene su aumento y la aparición de la creatina: he aquí un dato clínico, aun cuando su relación sea insegura, en favor de las ideas suscitadas por STUBER. También GROSS y STEENBOCK (3) han obtenido creatinuria por influencia de la tiroidina en el cerdo sometido a un régimen exento de proteínas, y DENIS (1) observó creatinuria por administración de proteínas a individuos afectos de la enfermedad de Basedow, lo cual haría admitir, en condiciones especiales, un origen exógeno de la creatina. Las diferencias que respecto al metabolismo de la creatina existen entre los dos sexos podrían reducirse a diferencias en la respectiva situación endocrina.

(1) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. IX, fasc. 5.° y 6.°
(2) *Id.*, vol. XII, 1921.
(3) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XLVII, pág. 45, 1921.

No se sabe cuál es el fin fisiológico de la creatina muscular: algunos han supuesto (BÜRGER) una acción aceleradora de la contracción muscular, una especie de acción catalítica sobre los procesos metabólicos correspondientes. Expongamos un hecho interesante: la descarboxilación de la creatina da origen a un veneno típicamente productor de tetania experimental (2), la dimetilguanidina:



Las guanidinas en general son tóxicas: son bases que se han encontrado aumentadas en la orina de los animales paratiroidectomizados y que se supone que intervienen en la génesis de la tetania consecutiva a la extirpación del paratiroides y quizá también de la tetania humana o, por lo menos, de algunas formas de ésta. Ahora bien: la creatina podría representar un producto de desintoxicación (por metilación *limitada* de la guanidina y adición de un radical graso) efectuada en el músculo y en otros sitios y quizá útil en pequeña cantidad para mantener un cierto nivel de excitabilidad neuromuscular, pero dañosa apenas está en exceso: la acción fisiológica y favorable de la guanidina estaría comprendida entre ciertas concentraciones bien definidas, y la creatina sería el eje de las reacciones limitadoras y protectoras contra el acúmulo de guanidina en exceso. Además, y según este modo de ver, la creatina podría conservar también una función por la cual vendría a actuar favorablemente sobre los procesos metabólicos específicos del músculo. La formación de la creatina, o por lo menos la desintoxicación de las guanidinas, parece que está bajo la influencia de las paratiroides: en efecto su extirpación va acompañada de acumulación de guanidinas en el cuerpo ; además las paratiroides favorecen también la fijación de Ca en las partes blandas, y quizá de una manera especial el acúmulo de Ca-iones en el músculo y en los aparatos neuromusculares. Por lo tanto puede decirse que, desintoxicando las guanidinas (excitadoras, tetanizantes) y favoreciendo la aportación de iones Ca en los aparatos neuromusculares, las hormonas paratiroideas son *hormonas sedantes*

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XXX.
(2) FRANK, *Klin. Woch.*, 1922, n.° 7.

de la excitabilidad neuromuscular. También las hormonas tiroideas deberían (véase más arriba), según datos recientes merecedores de confirmación ulterior, favorecer la metilación de las guanidinas. Pero falta aún una síntesis satisfactoria de los distintos hechos referentes al metabolismo de la creatina.

e) Destino del azufre de las proteínas.

Refiriéndonos al esquema de la página 617 vemos que el azufre de las proteínas exógenas, alimenticias, es completamente oxidado formando ácido sulfúrico, que, asociándose con álcalis fijos, es eliminado en forma de *sulfatos urinarios;* por el contrario, el azufre de las proteínas de los tejidos (citoproteínas) experimenta una oxidación menos completa y es eliminado por la orina en forma de *azufre neutro*. Puede decirse, por lo tanto, que todo el azufre urinario puede repartirse en: 1.°, el *azufre ácido* o azufre de los sulfatos que asciende a 75-85 % del azufre total, y 2.°, el *azufre neutro* que importa un 15-25 % del azufre total; el primero es el término del metabolismo exógeno de las proteínas o, por decirlo mejor, la forma terminal del S de las proteínas exógenas, mientras que el segundo es el término del metabolismo del azufre de las citoproteínas. La relación $\frac{\text{S ácido}}{\text{S neutro}}$ aumenta, pues, por la absorción de proteínas alimenticias y desciende notablemente en el ayuno, porque disminuye el S ácido, mientras que el S neutro permanece constante o aumenta poco. Siempre que los procesos oxidativos a expensas de las proteínas alimenticias languidecen, siempre que se acentúan los procesos destructivos de las proteínas corpóreas (como en muchas caquexias, tumores malignos, etc.) desciende también el cociente expresado, sea porque disminuye el valor del numerador o porque crece el valor del denominador.

El azufre neutro está integrado en gran parte por el de los *ácidos oxiproteínicos*, ya citados varias veces, a las que quizá también pertenecen el urocromógeno y el urocromo (el pigmento amarillo normal), cuerpos nitrogenados complejos de carácter más o menos coloide y de naturaleza probablemente similar a los polipéptidos: no son despreciables, pues constituyen un 6 % aproximadamente del N urinario total. Además se encuentran pequeñas cantitades de azufre neutro en forma de *sulfocianatos* o constituyendo compuestos mejor definidos, entre los cuales deben haber *derivados de la taurina biliar*, porque el S neutro aumenta si hay estasis y reabsorción de bilis, y disminuye por el contrario si la bilis es conducida por una fístula al exterior en vez de pasar al intestino, donde muchos de sus constituyentes y hasta la taurina (en forma de ácido taurocólico) son parcialmente reabsorbidos.

El estudio del azufre urinario proporciona, por lo tanto, datos importantes sobre el proceso metabólico de las proteínas.

No se sabe por qué períodos intermedios pasa el azufre para llegar de la cistina — en forma de cuyo aminoácido se encuentra en las proteínas — a los sulfatos o a cuerpos menos oxidados; el único derivado conocido de la cistina — o mejor, de la cisteína — es la taurina, que tiene un destino perfectamente específico. Normalmente la cistina administrada *per os* es quemada y producen un aumento de los sulfatos. En la página 627 hemos hablado ya de la *cistinuria*, como de una insuficiencia de la combustión de este aminoácido.

f) Otros derivados proteicos.

Nos referimos a los cuerpos fenólicos, oxifenólicos e indólicos, derivados de la fenilalanina, de la tirosina y del triptófano, que se producen principalmente por la acción de los procesos de putrefacción, o sea no por parte de las fuerzas oxidativas intraorgánicas, sino por efecto de las bacterias contenidas en el intestino: ya hemos hablado de ellos en la Primera Parte [Cap. VII, *l*) y *m*)]. No es imposible que estos cuerpos aromáticos (que son eliminados previa copulación con los sulfatos o con el ácido glucurónico) puedan formarse en pequeñas cantidades en el metabolismo corpóreo, aun cuando éste rompe frecuentemente el núcleo bencénico o fenólico y utiliza el indólico para otras construcciones (hormonas, etc.). Así, rompiéndose el núcleo bencénico, podría dar lugar (Jaffé) al ácido mucónico:

$$\begin{array}{l} CH = CH - COOH \\ | \\ CH = CH - COOH \end{array}$$

La producción de *aminas* a partir de las proteínas, durante el metabolismo intermedio, ha sido ampliamente estudiada en varios capítulos precedentes: de este modo el organismo se procura por sí mismo los *reguladores* que le hacen falta, específicos en cuanto al punto de acción sobre determinadas regiones del sistema nervioso vegetativo o sobre ciertos órganos.

Por una especie de reacción accesoria aun oscura, puede formarse en el metabolismo intermedio de ciertas proteínas, ácido oxálico $\begin{array}{l} COOH \\ | \\ COOH \end{array}$; y efectivamente se ha obtenido *oxaluria* suministrando grandes cantidades de gelatina comercial a los animales y al hombre. Pero también se ha visto eliminar ácido oxálico por la administración de glucosa a grandes dosis, quizá de glicocola, de cuerpos púricos, de ácidos aspártico y glutámico, etc. También en el ayuno prolongado aparece una oxaluria de origen claramente endógeno. Se ha admitido también que este ácido bibásico procede de la oxidación de los cuerpos púricos. *In vitro* se forma ácido oxálico en muchas reacciones a expensas de los hidratos de carbono, como en la oxidación enérgica de la glucosa. Es, por lo tanto, difícil decir cómo se origina en el metabolismo intermedio; quizá es el resultado de una reacción colateral y accesoria.

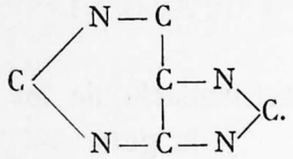
Además de una oxalemia y oxaluria *endógenas* (que no están necesariamente relacionadas con la gota) y de las *exógenas* debidas a la administración de ciertas proteínas (colágeno) o derivados proteicos o de ciertos hidratos de carbono y de sus productos de escisión, hay una *oxaluria por administracción de ácido oxálico preformado*, que se encuentra en ciertos alimentos vegetales (acederas, ruibarbo, espinacas, te, que contienen 1-3 por 1000 de sales del ácido citado, generalmente sales de Ca, insolubles y por lo tanto solamente absorbibles cuando hay una buena acidez gástrica) y que también existe en indicios en la carne, hígado y timo. Este ácido es escasamente combustible y el ingerido con los alimentos reaparece siempre, por lo menos en parte, en la orina.

CAPÍTULO VI

El metabolismo intermediario de los núcleoproteidos y la gota

La facultad de construir los núcleoproteidos que necesitan para su sostén no es privativa de las plantas y de los microorganismos llamados *autotróficos* y *prototróficos*, o sea capaces respectivamente de realizar la síntesis de su protoplasma mediante compuestos inorgánicos o elementos químicos (aptos, por ejemplo, para construir proteínas con el N del amoníaco y de los nitratos o hasta con N elemental). También el organismo de los animales superiores puede formar sus propias purinas y pirimidinas y, con éstas y ácido fosfórico e hidratos de carbono, sintetizar el ácido nucleínico, el grupo prostético característico de los núcleoproteidos. En efecto: los huevos de las aves son muy pobres en purinas y sin embargo el organismo que se desarrolla requiere grandes cantidades de purinas, que elabora a expensas de otros compuestos nitrogenados, porque hay una intensa neoformación de núcleos y fabricación de los núcleoproteidos respectivos. También la leche es un alimento pobre en purinas por excelencia, y sin embargo el mamífero joven se desarrolla perfectamente y aumenta el número de células y de núcleos a pesar de estar sometido a dieta láctea. El organismo adulto sintetiza probablemente sus núcleoproteidos, porque tampoco cesan nunca en él los fenómenos de proliferación celular y por lo tanto la nueva formación de núcleos (glándulas sexuales, órganos hematopoyéticos, epitelios de los tegumentos, etc.) y por otra parte mueren continuamente y se destruyen núcleos y cuerpos púricos, es decir, materiales de construcción esenciales para los núcleoproteidos que, hasta en el ayuno y en la dieta más extrictamente apurínica, son continuamente eliminados por la orina y las heces (jugos digestivos, células de las mucosas). Hay que hacer una observación por lo que se refiere a las aves: en ellas se elimina abundantemente un cuerpo purínico, el ácido úrico, que sin embargo *no es de origen nuclear* como en los mamíferos; es un ácido úrico de significado diverso, un término final del metabolismo proteico, que en estos animales corresponde, en cierta manera, a la urea de los mamíferos. Así en la orina de las ocas, cosa de un 70 % del N se encuentra en forma de ácido

úrico, y el resto en gran parte como NH_3. Se admite comúnmente que el metabolismo de las proteínas conduce también en las aves a la formación de NH_3, que (quizá en el hígado) es sintetizado con un cuerpo de tres átomos de C, probablemente ácido láctico, para formar ácido úrico. Tal vez el amoníaco produce primero urea y luego la urea es combinada con los tres C para construir el anillo purínico, cuyo esqueleto parece como si estuviera constituído por dos moléculas de urea soldadas a una cadena de tres átomos de carbono:



Por lo tanto el ácido úrico de las aves es de *formación sintética* y tiene un significado completamente distinto que en los mamíferos. Volviendo a éstos, podemos preguntarnos cuál puede ser, de una manera hipotética el origen del anillo púrico y del pirimídico, que son los componentes más característicos del ácido nucleínico, si no pueden derivar de anillos iguales ya preformados. Se ha pensado sobre todo en la histidina y en la arginina, como substancias madres de los cuerpos púricos (1): en efecto, puede decirse que en las purinas existe el núcleo imidazólico, característico de la histidina, y si se comparan las fórmulas respectivas se observa cierta semejanza entre la histidina y la arginina. Pero, si se prescinde de una observación de HOPKINS, quien vió disminuir la eliminación de cuerpos púricos en las ratas sometidas a un régimen pobre en estos dos aminoácidos, no hay pruebas directas de esta función tan importante en ellos.

Mucho mejor informados que acerca de la síntesis de los núcleoproteidos y de la génesis de las purinas a expensas de otros cuerpos, lo estamos sobre la *desintegración de los componentes nucleares* citados y sobre el *destino de los cuerpos púricos* que por efecto de ésta son puestos en libertad.

En la digestión por los fermentos, los núcleoproteidos alimenticios son escindidos gradualmente de la manera que ya se ha indicado en la Sección I; substancialmente su porción proteica es desintegrada como otra proteína cualquiera, mientras que el ácido nucleínico, liberado de la proteína (es principalmente la tripsina la que deja este ácido en libertad) debería ser fragmentado ulteriormente en sus componentes. En realidad el ataque del ácido nucleínico por efecto de las enzimas digestivas no va muy adelante: el jugo intestinal tiene la máxima eficacia en este sentido: primero, y gracias a las *nucleacidasas* que contiene, escinde el ácido nucleínico en los diversos nucleótidos elementales, y luego actúa sobre estos nucleótidos mediante las *núcleotidasas* y los descompone en ácido fosfórico y nucleósidos (2). Por lo

(1) Véase también, pág. 619.
(2) C. FOA, *Arch. di fisiol.*, vol. IV, 1906.

tanto, es cierto que *en el ataque de los ácidos nucleínicos en el tubo digestivo, no se llega más allá de los nucleósidos*, y que las bases púricas *libres*, contenidas en las heces, derivan de las bacterias, de los jugos digestivos mismos o de los epitelios descamados y disgregados, pero nunca de los alimentos. Los cuerpos púricos son, por lo tanto, absorbidos, y llegan a la sangre en forma de nucleótidos o de nucleósidos.

En el metabolismo de los órganos, los núcleoproteidos son atacados de una manera semejante pero más completa: hay escisión del componente proteico, que es presa de los endofermentos o fermentos autolíticos, escisión del ácido nucleínico en nucleótidos elementales y luego resolución de éstos en ácido fosfórico, hidratos de carbono y bases púricas o pirimídicas. Si queremos dar una denominación precisa a estos fermentos, deberemos llamar *nucleasas* o *núcleoproteidasas* a los que rompen el enlace de naturaleza salinosímil de la proteína con el grupo prostético (ácido nucleínico), y *núcleoacidasas* a las que escinden luego el ácido nucleínico en los mononucleótidos simples. Por lo tanto puede haber dos tipos distintos de desintegración, y quizá los dos se realizan en el cuerpo; puede producirse una escisión que afecte el enlace de la base nitrogenada (purina) con el hidrato de carbono, separándose por una parte la base libre y por otra el compuesto del ácido fosfórico con el hidrato de carbono, cuyo fermento correspondiente sería una *purinonúcleoacidasa* o, mejor, una *purinonúcleotidasa;* pero también puede romperse la unión entre el ácido fosfórico y el hidrato de carbono y obtenerse por un lado ácido fosfórico libre y por otro una especie de glucósido o pentósido, o sea el compuesto de la base con el hidrato de carbono *(nucleósido)*, gracias a un fermento que deberíamos llamar una *fosfonúcleoacidasa* o *fosfonúcleotidasa*. El primer fermento, que atacaría una verdadera unión glucosídica entre la base nitrogenada y el hidrato de carbono, sería una verdadera *glucosidasa*, tal como se encuentran frecuentemente en el reino vegetal. Finalmente deben intervenir otras enzimas para romper la unión que todavía persiste, y que según los casos enlazará la base y el hidrato de carbono o el hidrato de carbono con el ácido fosfórico. De esta manera, por la acción sucesiva de estos ataques enzimáticos, el ácido nucleínico se resuelve en sus componentes: ácido fosfórico, hidrato de carbono y bases púricas o pirimídicas.

Por lo dicho se comprende que las bases púricas y piramídicas tienen dos procedencias distintas: pueden derivar de los núcleoproteidos alimenticios o de los núcleoproteidos de las células del organismo. Para los núcleoproteidos hay, pues, un metabolismo exógeno y otro endógeno y, de un modo correlativo, las substancias púricas pueden tener un *origen exógeno* y *otro endógeno*.

¿Cuál es, ahora, el destino de cada uno de los componentes de los núcleoproteidos, tanto si son exógenos como endógenos? El ácido fosfórico es naturalmente eliminado: el comportamiento del ácido fosfórico urinario refleja en gran parte el metabolismo de los constituyentes nucleares específicos o núcleoproteidos (y además el de los li-

poides fosforados). Los hidratos de carbono (d-ribosa, glucosa, etc.) son incorporados rápidamente al metabolismo de los hidratos de carbono. Las bases pirimídicas tienen un destino inseguro; quizá son oxidadas en su mayor parte, con formación de urea. Más conocido e interesante por ahora es el destino de los cuerpos púricos.

En efecto, la adenina y la guanina, dos *aminopurinas*, las principales bases púricas preformadas en los núcleoproteidos de los órganos, son primeramente desaminadas, por una verdadera desaminación hidrolítica, una de las pocas bien conocidas en el cuerpo, con formación de las oxipurinas correspondientes: hipoxantina de la adenina y xantina de la guanina; este proceso se debe a la acción de los fermentos desaminantes o desaminasas, que podrían llamarse *adenasa* y *guanasa*. El amoníaco resultante es probable que ingrese directamente en el ciclo de los cuerpos amoniacales, contribuyendo, por ejemplo, a la síntesis de la urea. Luego tiene lugar una acción oxidante sobre las oxipurinas, por la acción de oxidasas *(xantoxidasas)* y así se forma *ácido úrico* que en el hombre está destinado a la eliminación, por lo menos en gran parte, por las vías urinarias.

Actualmente existen numerosas pruebas de que en los órganos de todos los animales y hasta en los humanos se desarrollan, en condiciones de autolisis aséptica (autodigestión a 37° bajo cloroformo o toluol), estas sucesivas transformaciones de las purinas: la guanina, por ejemplo, añadida a una papilla de hígado o de bazo y sometida a una corriente de aire, es transformada casi totalmente en ácido úrico (80-90 %); si se prescinde de la corriente de aire, se obtiene xantina en gran parte y, de una manera limitada, ácido úrico. Nótese que el bazo de cerdo no puede transformar la guanina en ácido úrico; quizá esto permite entrever la génesis de la llamada *gota de guanina* (con concreciones de guanina en las articulaciones) de este animal (1). El hígado es, como en el hombre, el órgano más eficaz para estas transformaciones, acerca de cuyas modalidades y limitaciones no hay un acuerdo absoluto, pero que están comprobadas en sus líneas generales.

En los mamíferos distintos del hombre, el ácido úrico es oxidado posteriormente (el fermento correspondiente se llama *uricasa)* con formación de *alantoína* (pág. 176), y los órganos correspondientes, especialmente el hígado, son capaces hasta *in vitro* de transformar el ácido úrico en alantoína. Se debe a Galeotti (2) una serie de tentativas para el aislamiento del fermento uricolítico o uricasa del hígado de perro y del de los selacios (precipitando con acetona el jugo obtenido por prensado del órgano). Así la alantoína es para muchos mamíferos el producto principal de eliminación urinaria de los cuerpos púricos mientras que el ácido úrico está muy poco representado en las orinas de estos animales. Los órganos humanos, por el contrario, no contienen uricasa activa *in vitro;* el ácido úrico no es transformado en alantoína

(1) Jones y Austrian, *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. XLVIII.
(2) *Bioch. Zeitschrift.*, vol. XXX, 1911.

por las papillas o extractos de órganos humanos. En ellos el ácido úrico, por lo menos aparentemente, es el producto principal del metabolismo de las purinas.

De la misma manera que el hombre, cuyo término principal del metabolismo de las bases púricas es el ácido úrico, se comportan los simios superiores y quizá las ratas (por lo menos según Folin y Morris) (1). Por el contrario, la alantoína es el producto terminal de la eliminación de los cuerpos púricos en los monos inferiores (en el cercopiteco Hunter y Givens encontraron que el 75 % del N de los cuerpos púricos urinarios endógenos estaba en forma de alantoína y el resto como bases diversas; el ácido úrico faltaba casi por completo, y sólo se observaba cierta descarga de él cuando se administraba nucleinato sódico) (2), en el perro (3) que tiene el 93-97 % del N púrico total en forma de alantoína, en el gato, en el conejo y en el cerdo. En el caballo hay un tipo intermedio de metabolismo, encontrándose principalmente alantoína, pero también una cierta cantidad de ácido úrico (4). Adviértase sin embargo que ninguna de estas fracciones del N púrico falta del todo en la orina de ningún mamífero: el hombre mismo, en el cual el ácido úrico es la forma principal de los cuerpos púricos en la orina, elimina, según Wiechowsky (5), Schittenhelm y Wiener (6), indicios de alantoína, hasta 10-15 mgr. en 24 horas, y pequeñas cantidades de bases púricas que preceden al ácido úrico en la escala de la oxidación sucesiva.

El hombre, con un régimen completamente exento de núcleoproteidos y, por lo tanto, de purinas (leche, huevos, queso), presenta una eliminación de cuerpos púricos endógenos que alcanza unos 0,350-0,600 gr. al día, de los cuales 0,300-0,480 gr. son de ácido úrico y el resto está formado por los demás cuerpos púricos, con los indicios de alantoína ya citados. Si en la dieta existen cuerpos púricos preformados, hay un aumento de estas cifras que, sin embargo, en el hombre casi nunca igualan la cantidad de purinas exógenas. Este punto merece, pues, una consideración especial: se relaciona con la cuestión de si el hombre puede o no destruir ulteriormente el ácido úrico, formando, por ejemplo, urea, o quiza también ácido oxálico (sin embargo, es más probable que el ácido oxálico y el glioxílico se formen de la alantoína). Si se verificase esta uricolisis, el ácido úrico no sería, *ni siquiera en el hombre*, el verdadero y definitivo producto terminal del metabolismo de las purinas; pero debería admitirse la existencia de poderes uricolíticos o uricooxidantes, gracias a los cuales parte de este ácido sería metabolizado ulteriormente, y esto explicaría el *déficit* que frecuentemente se observa comparando las purinas alimenticias con las que

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XV, pág. 509.
(2) *Id.*, vol. XIII, pág. 371.
(3) Wiechowski, *Beitr. z. chem. Pathol.*, vol. XI, pág. 109.
(4) Wiechowski, *Bioch. Zeitschr.*, vol. XIX.
(5) *Bioch. Zeitschr.*, vol. XXV.
(6) *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. LXIII.

aparecen en la orina sumándose a las purinas endógenas, las últimas de las cuales tienen un valor bastante constante para cada individuo. Detengámonos un poco en esta cuestión, hasta por la importancia que tiene para la génesis de la gota (1).

Ante todo debe hacerse notar que existe una diferencia en la recuperación de las substancias púricas exógenas según que se trate del hombre o de otros animales, hasta prescindiendo de la naturaleza de los productos urinarios y teniendo en cuenta solamente la cantidad global. En efecto, si hacemos ingerir a los animales o les inyectamos por vía endovenosa cuerpos púricos o ácido nucleínico, encontraremos estas substancias en la orina casi o completamente transformadas en alantoína: hasta frecuentemente (2) se encuentra en la orina un exceso de cuerpos púricos respecto a los administrados, como si los exógenos hubiesen excitado la formación endógena de bases púricas, hecho extraordinariamente interesante, sobre el que insistiremos. En el hombre, por el contrario, si se administra «per os» el ácido nucleínico o si se inyecta éste o el mismo ácido úrico, sólo se encuentra en la orina una fracción más o menos elevada, pero nunca en su totalidad; es aquí donde se acentúa la discusión entre SCHITTENHELM por una parte y THANNHAUSER (3), GUDZENT (4), para citar los autores más recientes, y UMBER, RETZLAF y WIECHOWSKY entre los más antiguos, por otra. Estos últimos investigadores sostienen que el ácido úrico no es atacado en el metabolismo intermedio del hombre y que el *déficit* es debido a otras causas: si se trata de administración oral, una porción mayor o menor puede ser destruída por las bacterias intestinales y, por lo tanto, no ser reabsorbida, lo que explicaría el que no se encontrase en la orina: el mismo SCHITTENHELM ha demostrado hace varios años que las bases púricas pueden desaparecer de las heces por efecto de la putrefacción, y THANNHAUSER y DORFMÜLLER (5) y ROTHER (6) confirman y amplían la posibilidad de la ruptura del anillo de la purina por la actividad de las bacetrias y la desaparición por este motivo de purinas introducidas. Si además se toman en consideración las experiencias actualmente numerosas de inyección endovenosa en el hombre de ácido úrico disuelto con piperacina o con sosa cáustica (para detalles y comparación de los dos métodos, véase un trabajo de BÜRGER) (7), en las cuales se obtiene a veces una eliminación casi total según

(1) Los trabajos de SCHITTENHELM *(Handb. d. Biochem.* de OPPENHEIMER, volumen IV), SCHITTENHELM y BRUGSCH *(Der Nukleinstoffwechsel u. seine Störumgen*, Jena, 1910), THANNHAUSER *(Ueber d. chem. Aufbau des Nukleisäuremoleküls u. seine Veränderungen im Stoffwechsel des Menschen*, Munich 1917) contienen todos los datos clínicos experimentales y químicos sobre esta cuestión y otras tratadas en este capítulo.

(2) SCHITTENHELM y sus colaboradores, *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. LXII y LXIII.

(3) *Therap. Halbmonatsschr.*, 1921, n.° 23.

(4) *Berlin. klin. Woch.*, 1921, n.° 48.

(5) *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. C.

(6) *Id.*, vol. CXIV.

(7) *Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol.*, vol. LXXXVII, pág. 392, 1920.

estos autores, se tendrá otro argumento en favor de la inatacabilidad del ácido úrico libre en el organismo. Pero recientemente SCHITTENHELM, junto con HARPUDER, insiste en su doctrina de que el ácido úrico es atacable en el metabolismo intermedio del hombre y que no representa el verdadero producto terminal del metabolismo púrico (1): como conclusión de sus trabajos cree poder afirmar que los cuerpos púricos solamente son destruídos en el intestino grueso, en donde pululan las bacterias de la putrefacción, mientras que se conservan intactos en el intestino delgado en el cual se absorben íntegramente (como lo demuestra en perros con fístula en la última porción del ileo, a los que administra ácido nucleínico, y que confirma en el hombre por medio de un dispositivo experimental adecuado), por lo cual su destrucción por obra de las bacterias no puede explicar el *déficit* que se discute. Este *déficit* se observa siempre, según SCHITTENHELM y HARPUDER, hasta cuando se inyectan cuerpos púricos en las venas a pesar de que estos cuerpos son siempre más o menos tóxicos y producen una disgregación celular y por lo tanto nueva producción de cuerpos púricos endógenos que a veces pueden enmascarar el *déficit;* en sus nuevas experiencias, inyectando ácido úrico, otros cuerpos púricos o nucleósidos (guanosina y adenosina) en las venas de individuos con metabolismo púrico probablemente normal, los autores citados encontraron solamente algunas veces eliminación casi total, y más frecuentemente observaron un *déficit* claro. Para resolver la cuestión de si los cuerpos púricos son retenidos en algún órgano, inyectaron a un moribundo dosis elevadas de ácido úrico en las venas para buscarlo en varios órganos después de la muerte; así encontraron que desaparece rápidamente de la sangre y se deposita en los órganos, ante todo en el hígado, luego en los huesos y cartílagos y finalmente en la piel, pero también en estos experimentos una parte había desaparecido y no se hallaba en ningún tejido del cuerpo (2). Considerando todo esto, SCHITTENHELM se cree con derecho a sostener su doctrina de la *uricolisis normal.* Hay una objeción, que es quizá la principal y cuya gravedad no deja de reconocer SCHITTENHELM: así como los órganos humanos atacan *in vitro* con mayor o menor facilidad los distintos cuerpos púricos para convertirlos en ácido úrico, hecho que ha sido demostrado por el propio SCHITTENHELM, además de LEVENE, WIECHOWSKY, etc., estos mismos órganos, como ya hemos dicho, no son capaces de destruir el ácido úrico. Las experiencias en animales tienen en este caso menos valor.

(1) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXVII, 1922.

(2) En experimentos recientes FOLIN, BERGLUND y DERICK *(Journal of biol. hem.*, vol. LX, n.° 2, 1924) encontraron que, por lo menos en el perro, es el riñón el que recoge, haciéndose edematoso e hinchándose, casi todo el ácido úrico inyectado en las venas (disuelto en carbonato de litina). Más tarde el riñón lo vuelve a ceder lentamente a la sangre, en donde poco a poco es destruído. En el hombre, según estos autores habría una menor capacidad renal respecto a la absorción del ácido úrico, es decir que la facultad del riñón para actuar como depósito de esta escoria nitrogenada estaría disminuída y dicho órgano tendría mayor tendencia a funcionar como aparato de eliminación.

Una comprobación muy interesante sería seguramente la debida a M. Ascoli e Izar (1), que una papilla de hígado es capaz de destruir *in vitro*, en presencia de oxígeno, una cierta cantidad de ácido úrico y que, si se excluye completamente el oxígeno, la misma papilla es capaz de hacer reaparecer poco a poco el ácido úrico si se mantiene durante cierto tiempo a 37°. La reacción que se realiza en un sentido (hacia la uricolisis) en presencia de O_2, se verifica en sentido opuesto (uricosíntesis) por exclusión del O_2; ejemplo notable de varios procesos metabolicos capaces de realizarse en sentido diverso y a veces opuesto según la influencia de un factor determinado; presencia de más o menos oxígeno, condiciones aerobias o anaerobias, etc. Pero en este caso tampoco sabemos si estamos autorizados para aplicar al hombre vivo los resultados que pueden obtenerse *in vitro* con órganos animales.

Por lo tanto, y aun reconociendo la justicia de los argumentos de Schittenhelm, debemos concluir que todavía no se ha comprobado una verdadera uricolisis en el hombre. La cuestión se ha complicado aun más después de las recientes investigaciones y consideraciones de Brugsch y Rother (2) quienes encontraron una clara y no despreciable eliminación de ácido úrico por las vías biliares (y, solamente indicios, por la saliva y el sudor): como valores mínimos dan estos autores 50 mgr. de ácido úrico en 1000 cc. de bilis obtenida por fístula, y 200 mgr. en 1000 cc. de bilis de la vesícula. Hay, pues, una fracción de ácido úrico que se elimina por una vía antes no sospechada y que podría representar todo o parte de la diferencia que se nota entre la cantidad de purinas introducidas y las encontradas en la orina, diferencia que ha hecho discutir la posibilidad de una uricolisis. Según Brugsch y Rother el ácido úrico (exógeno o endógeno) se reparte, si queremos comprenderlo en su totalidad, en dos fracciones: una *urotropa*, que se elimina por el riñón y otra *enterotropa* que se elimina por la vías biliares, llega al intestino y en el grueso es más o menos destruída por las bacterias, pero en parte queda como purinas fecales, en otro tiempo consideradas como procedentes en su totalidad de los epitelios descamados y secreciones no reabsorbidas. Puede decirse que las dos fracciones representan dos valores variables según varios factores, siendo uno de ellos el estado funcional del hígado: en realidad la orina de los ictéricos contiene cantidades elevadas de ácido úrico, quizá porque en estos enfermos está abolida la eliminación enterotropa y todo el ácido úrico se descarga por las vías biliares. Por el contrario, en la gota se ha supuesto un predominio de la función enterotropa, del cual derivarían los bajos valores urinarios endógenos que se observan fuera del acceso.

De todas maneras estas comprobaciones tienen gran importancia y proporcionan una base científica a las observaciones empíricas secu-

(1) *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. LVIII, fasc. 6.°, 1909.
(2) *Klin. Woch.*, 1922, n.° 30 y 35.

lares acerca de las ventajas que reportan los gotosos del uso de aguas sulfatado-sódicas y magnésicas (tipo Montecatini, Carlsbad, etc.), conocidas por su acción colagoga más o menos acentuada; al aumentar éstas la eliminación biliar, facilitarían la eliminación de ácido úrico enterotropo que quizá en los gotosos ya es bastante elevada, con objeto de compensar los factores de retención o de fijación en los tejidos (véase más adelante).

Al llegar aquí, debemos dedicar dos palabras al ácido úrico endógeno. Ya se ha dicho que su valor es bastante constante, y puede determinarse en el individuo en ayunas, o mejor sometido a una dieta *apurínica*, porque el ayuno es siempre una condición anormal en la cual las células se desintegran abundantemente para proporcionar materiales a los elementos celulares más esenciales. Se ha pensado que una cantidad considerable podría derivar de la hipoxantina de los músculos, ya que se sabe que el músculo es rico en éste y en otros cuerpos púricos; según Scaffidi (1) el miocardio es el tejido muscular más rico en purinas, luego vienen los músculos esqueléticos y luego los lisos. En efecto, parece según algunos que existe una cierta relación entre el desarrollo de la musculatura y las cifras de ácido úrico endógeno y, si no en el trabajo muscular regular, en la fatiga ha encontrado Scaffidi un aumento de la eliminación de cuerpos púricos; sin embargo es muy razonable suponer, como ya lo hace el mismo Scaffidi, que estas purinas no sólo proceden de los núcleoproteidos musculares, sino también de los núcleoproteidos de otros tejidos que la fatiga, que es una autointoxicación, puede dañar más o menos. En la fatiga, y de un modo proporcional al aumento de las eliminaciones, disminuiría además la cantidad de purinas unidas a los núcleoproteidos de las masas musculares. Siempre que aumentan las disgregaciones celulares, como en la fiebre, en la intoxicación por el fósforo (2), etc., hay generalmente un aumento de la porción endógena de ácido úrico y cuerpos púricos. Según Scaffidi no se observan modificaciones (en los mamíferos) cuando se reducen los cambios gaseosos. Los valores del ácido úrico endógeno sufren una modificación notable por la ingestión de alimentos: está demostrado que después de una comida, hasta perfectamente apurínica, hay una cierta elevación de la cantidad de ácido úrico en la sangre y en la orina, y que después de una pequeña comida de carne, no es raro observar hasta en el hombre, como ya habíamos dicho para los animales (pág. 650) un aumento en la eliminación de ácido úrico, que supera el que puede atribuirse a las purinas introducidas con la carne; puede, pues, decirse que la comida excita la formación y eliminación de ácido úrico. ¿Por qué mecanismo? Uno de ellos podría ser el siguiente: los jugos digestivos, vertidos en cantidad en el tubo gastro-intestinal después de la ingestión de la comida, contienen una cantidad bastante elevada de cuerpos púricos, los cuales podrían

(1) *Arch. ital. de biol.*, vol. LVIII y LIX.
(2) Scaffidi. *Sperimentale*, año LXIII, fasc. 6.°

ser reabsorbidos en parte y originar la breve hiperuricemia y el aumento consiguiente de la eliminación urinaria (1). Otra explicación sería la hipótesis de BRUGSCH, en la que insistiremos, que admite en los alimentos verdaderos estímulos de un centro nervioso que preside la formación de ácido úrico endógeno. Una tercera interpretación, sostenida también recientemente por MENDEL (2), da importancia a la leucocitosis digestiva, a la que sigue una destrucción de leucocitos con liberación de núcleoproteidos: en efecto, la cantidad de ácido úrico aumentaría también en otras formas de leucocitosis y es siempre elevadísima en la sangre de los leucémicos, en las cuales tantos glóbulos blancos se forman y mueren continuamente.

Un campo interesante de estudio para la cuestión del ácido úrico endógeno puede ofrecerlo el *lactante*, el cual, aun cuando esté a dieta completamente apurínica, elimina grandes cantidades de ácido úrico por la orina, que es por lo tanto todo o casi todo de origen endógeno, demostrando así la gran capacidad sintética para los constituyentes nucleares que deben formarse en este organismo (como en el huevo en desarrollo) para la fabricación de nuevos núcleos de las células en multiplicación. Recordemos que no son raros los llamados «infartos de ácido úrico» en el riñón de los recién nacidos.

Las cifras de ácido úrico en la orina de los lactantes durante las cuatro primeras semanas de la vida, oscilan, según los datos de la bibliografía (recogidos por FRANCIONI) (3) entre 6 y 30 mgr. por kilogramo de peso corpóreo; son mayores durante los primeros días, y luego disminuyen. Según una concepción de CANNATA el organismo del recién nacido no tiene un acentuado poder uricolítico: durante la vida intrauterina la placenta tendría una fuerte acción uricolítica subsidiaria y cuidaría de la destrucción de los cuerpos púricos a medida que se forman; por efecto del nacimiento, y por faltar bruscamente las funciones placentarias, se presentaría una sobrecarga de ácido úrico no destruído, de donde la formación de infartos úricos y la abundacia de ácido úrico en la orina de los primeros días. Luego el organismo adquiriría pronto el poder uricolítico normal y el metabolismo de los cuerpos púricos entraría en el curso normal. Pero ya hemos dicho cuan incierto y discutido es el poder uricolítico hasta en los adultos.

El estudio del metabolismo púrico en los lactantes ha sido hecho también en relación con los trastornos de la nutrición y con otros de distinta especie para aclarar la naturaleza de la diátesis exudativa. Parece que el ácido úrico es eliminado más abundantemente en los niños criados artificialmente que en los criados al pecho: en estos últimos debe haber una mejor utilización de los cuerpos púricos y, por lo tanto, una mayor retención o una menor destrucción de núcleoproteidos. Las in-

(1) MARES, *Pflüger's Arch.*, vol. CXXXIV.
(2) *Klin. Woch.*, 1922, n.° 25.
(3) *Riv. clin. pediatr,*. año XIII, fasc. 8 y 9, 1915.

vestigaciones de FRANCIONI ponen en evidencia las relaciones entre la eliminación de ácido úrico y la de ácido fosfórico en los trastornos de la nutrición del niño de pecho.

Parece que el hígado tiene una importancia notable en el metabolismo de las purinas. En las aves MINKOWSKI ha admitido que el ácido úrico, de origen sintético en ellas, se forma en el hígado. SCAFFIDI, que ha reanudado recientemente los experimentos de ablación del hígado en las aves (1) encuentra también que la operación va seguida de un descenso del ácido úrico endógeno, aunque menos importante de lo supuesto por MINKOWSKI. PERRONCITO (2), por el contrario, observa que en los perros que han sufrido la ablación hepática aumenta el ácido úrico de la sangre, y piensa que el hígado tiene un gran poder uricolítico, cuya ausencia después de la operación ocasiona la hiperuricemia observada. Ya se ha dicho que el hígado retiene, según SCHITTENHELM y HARPUDER, bastante ácido úrico inyectado. También en este caso hay contradicción entre los resultados de los distintos autores, que dependen del diferente material en que han experimentado y de las diversas técnicas empleadas. Así, las experiencias en aves no pueden ilustrarnos acerca de la uricopoyesis o uricolisis en los mamíferos por el diverso origen y significado del ácido úrico en estas dos clases de vertebrados.

Expuesto en sus líneas fundamentales el metabolismo normal de los cuerpos púricos, debemos tratar de un punto importante para la comprensión de la gota, de la que pronto hablaremos: la toxicidad del ácido úrico. La sal monosódica del ácido úrico tiene una acción flogógena y necrotizante sobre los tejidos, como se desprende de las experiencias de inyección intraperitoneal e intraarticular en el conejo, según HIS (3) y FREUDWEILER (4); los conejos parecen ser bastante sensibles a la intoxicación por el ácido úrico. Por el contrario, los perros, según ERBSTEIN y NICOLAIER, (5) soportan «per os» cantidades colosales de ácido úrico, hasta 1 kg., sin resultados nocivos. Los mismos autores, y posteriormente NARDELLI (6) y COSENTINO (7), obtuvieron, por inyección subcutánea en el conejo, torpeza, enflaquecimiento, alteraciones cutáneas (piel seca y pelo friable) y muerte por verdadera caquexia. Según COSENTINO el ácido timínico, preconizado ya en la terapéutica de la gota porque se considera como disolvente del ácido úrico, atenuaría en el conejo la acción tóxica del ácido úrico, pero ni aun en este caso nos encontramos en terreno seguro. Así, el mismo COSENTINO no observa que la toxicidad del ácido úrico en la rana se atenúe por la asociación con el ácido timínico, sino más bien, siendo

(1) *Arch. Scienze biol.*, vol. III, 1922.
(2) *Riforma medica*, 1920; *Boll. Soc. med. chir. di Pavía*, año 36, fasc. 1.°, 1924.
(3) *Deutsch. Arch. f. klin. Med.*, vol. LXV y LXVII.
(4) *Id.*, vol. LXIII.
(5) *Virchow's Arch.*, vol. CXLIII.
(6) *Arch. di Farmacol. sperim.*, vol. XIII, fasc. 8.°, 1912.
(7) *Id.*, vol. XIX, 1915.

también tóxico el ácido timínico, que sus efectos se suman. El ácido úrico produce en la rana (0,01 gr. suspendido en solución fisiológica) torpeza, disminución de la excitabilidad refleja y coloración amarillo-terrosa de la piel.

La gota. — Ya hemos visto a propósito de la química de la sangre cuáles son las condiciones en las que aumenta su concentración en ácido úrico y se ha dicho que, si en el gotoso hay frecuentemente *hiperuricemia*, ésta generalmente es moderada confundiéndose a veces con los valores normales más elevados, mientras que por otra parte existen condiciones en las cuales hay hiperuricemias mucho más acentuadas sin ningún signo clínico de gota (leucemias, reabsorción de exudados pneumónicos, acción de los rayos Röntgen con destrucción celular). Si, pues, no puede negarse que la hiperuricemia forma parte generalmente del cuadro de la gota, como reconocía GARROD con su célebre prueba del hilo, que sumergido en la sangre del gotoso (acidulada con ácido acético) se recubría de cristalitos de urato monosódico, por otra parte no puede decirse que este aumento de ácido úrico sea toda la gota ni que sea suficiente para explicarla.

Las nociones más seguras acerca de la anormalidad del metabolismo purínico en la gota, son las siguientes:

1.° En lo referente a la *excreción del ácido úrico endógeno*, está más pronto disminuída que aumentada, a veces dentro de los límites normales, pero tendiendo siempre hacia los valores más bajos: ¡este es el error de los profanos y de algunos médicos que creen poder diagnosticar la gota por el aumento del ácido úrico urinario! Además en el gotoso son más extensas que en el normal las oscilaciones de un período de tiempo a otro.

2.° En lo referente a la *excreción de ácido úrico exógeno*, es cierto que el gotoso lo elimina menos rápidamente que el sano; actualmente todas las investigaciones de numerosísimos autores coinciden en que si se administra por ingesta o por vía intravenosa una cierta dosis de cuerpos púricos (comidas con timo o nucleinato sódico, inyecciones de nucleósidos o de ácido úrico) al gotoso, éste elimina el ácido úrico correspondiente con cierto retardo respecto al individuo normal, y necesita para la eliminación completa de todo el ácido úrico exógeno un número de días mucho mayor que el requerido por un individuo sano. También se nota que en el gotoso generalmente es mayor la cantidad de cuerpos púricos exógenos que no se encuentran en forma de ácido úrico urinario y que dan lugar al *déficit* tan discutido (véase más arriba). La curva de ascenso lento, con un porción horizontal larga y baja, y de descenso lento y prolongado, que representa gráficamente la eliminación del ácido úrico después de haber sido administrado en abundancia, es una de las características de la gota; se la observa también en el alcohólico y en el saturnino pero sin presencia de gota clínicamente declarada; por lo demás es conocida la relación entre estas dos intoxicaciones y la gota verdadera.

Se ha estudiado la eliminación de ácido úrico después de la administración por ingesta de nucleinato sódico en los niños con diátesis artrítica y exudativa (se supone que existen, en estos casos, relaciones entre el neuroartritismo de los adultos y la diátesis exudativa infantil) y se ha encontrado retardada y prolongada, como en los adultos gotosos.

3.° *En la sangre* hay una elevación moderada de la cantidad de ácido úrico, como se ha dicho hace poco en la página 393; parece que la elevación del índice uricémico, que se observa siempre de una manera rápida y transitoria en el individuo normal después de una comida rica en purinas, es en el gotoso más baja y prolongada, por lo tanto menos clara y menos marcada, más confundida (por decirlo así) con la hiperuricemia habitual de estos pacientes. Pero sobre este punto son necesarias otras investigaciones.

4.° En el *acceso*, la cantidad de ácido úrico endógeno de la orina crece: hay una descarga de ácido úrico, aun cuando el paciente esté a régimen totalmente apurínico; pero también en este caso el ácido úrico exógeno es retenido y eliminado con lentitud, quizá aun más que fuera del acceso. En la sangre parece que durante el acceso hay una ligera elevación del índice uricémico, aproximadamente paralela a la mayor eliminación urinaria. Puede provocarse el acceso en el gotoso por la inyección de ácido úrico o de nucleótidos en las venas (así, por ejemplo, en las experiencias de THANNHAUSER) (1). Según UMBER y otros observadores cuidadosos, la descarga del acceso, o *crítica*, del ácido úrico va precedida y seguida de un breve período de retención aumentada; por lo tanto, la marcha de la excreción úrica en el gotoso con régimen apurínico es la siguiente: valores generalmente bajos de la cantidad urinaria de ácido úrico; en la proximidad del acceso hay un descenso *(estado depresivo precrítico)*; luego, durante el acceso, se presenta la descarga de ácido úrico; después, una fuerte reducción de la eliminación *(estado depresivo postcrítico)*, y más tarde un leve aumento, para volver a la cifra media y baja del individuo.

5.° En el gotoso, como en el normal, ciertos medicamentos (salicilatos, especialmente el ácido fenilquinolincarbónico o *atophan)* y agentes físicos (emanaciones de radio, según GUDZENT) (2) producen un aumento de la eliminación de ácido úrico de la sangre en las horas sucesivas a la administración. Parece que antes de este descenso del índice uricémico hay una elevación fugaz, que se supone debida a que parte del ácido úrico retenido en los tejidos es expulsado hacia la sangre, y después consigue vencer la barrera urinaria (3).

6.° Ciertos tejidos tienen afinidad electiva para el ácido úrico; éstos vienen a ser quizá como el verdadero depósito de este término del metabolismo de las purinas, y la proporción de ácido úrico en la sangre depende tal vez de la saturación de los depósitos de los tejidos

(1) *Zeitszhr. f. physiol. Chem.*, vol. XCI.
(2) *Berlín. klin. Woch.*, 1911.
(3) Véase: JOËL, *Klin. Woch.*, 1923, n.° 48 y 49.

(véase también las experiencias de SCHITTENHELM en la pág. 651) y tiene, por lo tanto, un valor secundario.

Tiene importancia para la génesis de la gota el hecho de que algunos tejidos — por ejemplo los *cartílagos* —, asiento notoriamente frecuente de las concreciones de urato monosódico tan características, tienen una gran tendencia a fijar ácido úrico hasta *in vitro*, como se desprende de los experimentos de ALMAGIÁ que se citan a menudo. De este hecho se deduce una explicación de la artrotropia del ácido úrico (1).

Si se prescinde de estos hechos, actualmente más o menos comprobados por lo menos en sus grandes rasgos, nada sabemos acerca de la esencia de la gota, de la misma manera que permanecen inciertas las causas del reumatismo crónico, de las diversas osteoartritis deformantes, etc., en las cuales, quizá también por lesiones concomitantes de arterioesclerosis del riñón, se observan a veces ligeras hiperuricemias.

La Química se ha ocupado mucho del modo cómo el ácido úrico está disuelto en la sangre, para derivar de ello alguna conclusión acerca de la patogenia de la gota: ya en la primera parte (pág. 173) hemos resumido la cuestión de la solubilidad de este cuerpo, y ahora repetimos que la sal monosódica, según unos, se encontraría en la sangre del gotoso, en una especie de solución sobresaturada, por lo cual precipitaría fácilmente, mientras que otros (SCHADE) dan importancia a factores coloidales en su disolución y precipitación. Es muy importante el hecho, sobre el cual llamó la atención GUDZENT (2) por las relaciones que pueda tener con la gota, de que el ácido úrico forma dos series de sales: una en la cual el ácido aparece en forma lactámica, y otra en que aparece en forma lactímica, la menos soluble y la más estable, en la cual tiende a transformarse la primera forma (pág. 172). Parece que el valor de saturación para la forma lactímica de urato es de 8,3 mgr. por 100 cc., y sin embargo, esta cifra es rebasada con frecuencia en la sangre del gotoso, en donde entonces debería precipitar. En general, GUDZENT es poco favorable a invocar factores coloidales en la solución y precipitación de los uratos: los tofos, según él, no son más que precipitados de urato monosódico de una solución sobresaturada. Adviértase, sin embargo, que el ácido úrico no es el único derivado de la purina que se encuentra en la sangre, sino que también hay pequeñas cantidades de bases púricas libres (1,5-1 mgr. de N de bases púricas libres por 100 cc. de suero) (3) y de bases púricas unidas a nucleósidos o nucleótidos, que quizá son en parte productos de absorción intestinal. Se debe a BASS (4) la demostración de que en la sangre existen nucleótidos circulantes, cuyo N representaría 8 ó 10 veces el del ácido úrico (hasta 5 mgr. por ciento). DAWIS, NEWTON y BENEDICT (1) encontraron en la sangre un pentósido del ácido úrico, y JACKSON (2) un nucleótido cuya base púrica es la adenina. Es, pues, probable que el problema patogénico de la gota debe ser resuelto teniendo presente no sólo *un* miembro del metabolismo púrico, como el ácido úrico, que es el terminal de toda la serie (por lo menos para los que niegan la uricolisis) sino todos los cuerpos púricos de la sangre y de los tejidos: el problema, por lo tanto, va complicándose notablemente.

(1) En su trabajo sintético ya citado, JOËL emite la hipótesis de que la fijación del ácido úrico en los cartílagos está influída simplemente por la gran riqueza en Na de estos tejidos; en este caso habría un retroceso de la disociación iónica del urato monosódico, que por sí misma ya es débil, y por lo tanto su precipitación.
(2) *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. LXIII.
(3) THANNHAUSER, *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. CX.
(4) *Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol.*, vol. LXXVI.

Citemos también la teoría patogenética de SCHITTENHELM y sus discípulos, quienes suponen que la gota depende de una disminución de los procesos uricolíticos normales que éstos admiten en el organismo: de aquí derivaría la acumulación en la sangre y en los tejidos de este material no destruído. A ésta se oponen recientemente otras dos: la de THANNHAUSER (3), que readoptando antiguas ideas, coloca al riñón en el centro del mecanismo patogenético y considera la gota como efecto de una insuficiencia renal, especializada respecto al ácido úrico, y, por lo tanto, como un trastorno de la excreción del ácido úrico y no de su formación o destrucción en el cuerpo (4); y la de GUDZENT (5), que tiene especialmente en cuenta la afinidad del ácido úrico para con los tejidos. GUDZENT expone todas las discordancias entre el contenido uricémico (al cual, por el contrario, da valor THANNHAUSER) y los signos clínicos de la gota; hace notar, por ejemplo, que se observan cifras bajas para el ácido úrico de la sangre en casos típicos con tofos numerosos, y que se encuentran cifras altas en individuos no gotosos y hasta en tuberculosos, luéticos, etc. Estudia los efectos de las inyecciones endovenosas de urato monosódico sobre el índice uricémico: en el hombre normal hay un ascenso brusco de la concentración, luego un descenso y después un nuevo ascenso lento seguido de una lenta caída terminal, mientras que en el gotoso falta o está escasamente representada esta segunda ascensión lenta. Esta marcha dependería efectivamente de que, en el individuo normal, poco después de la inyección el urato es recogido por los tejidos (de donde la caída que sigue al primer ascenso del contenido uricémico) y luego es vuelto a ceder poco a poco a la sangre (subida lenta), que después lo elimina; por el contrario, en el gotoso parece que es fijado permanentemente en los tejidos, cuya avidez para el ácido úrico estaría aumentada, y no sería (o lo sería poco) vuelto a ceder a la sangre para la eliminación. En el gotoso quedaría retenido en los tejidos hasta

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. LIV.
(2) *Id.*, vol. LVII, pág. 121.
(3) Op. cit. a pág. 758.
(4) También FOLIN y sus colaboradores, según las experiencias citadas en la página 651 (nota), serían partidarios de una concepción renal un poco modificada: en la gota habría una reducción ulterior de la capacidad renal, ya un poco baja en el hombre, para la absorción del ácido úrico.
(5) *Zeitschr. f. klin. Med.*, vol. XC, fasc. 3.° y 4.°, 1920.

un 90 % del ácido úrico inyectado. Este hecho, el aumento de la capacidad de los tejidos para fijar el ácido úrico, es designado por GUDZENT con el nombre de *uratoistequia*. El ataque de gota sería debido a que, por causas desconocidas, aumenta de una manera crítica la concentración de uratos en los tejidos, y el acúmulo de uratos en ellos (y no en la sangre) conduce a su precipitación como si se tratase de una solución sobresaturada (véase más arriba). GUDZENT encontraría realmente que los líquidos intersticiales (edema) y los exudados intraarticulares, por lo tanto los líquidos de los tejidos en general, siempre contendrían en el gotoso más ácido úrico que la sangre: sin embargo, esta observación, que sería decisiva en favor de la teoría de la *uratoistequia*, es negada por otros.

Vemos, pues, que ninguna teoría está sólidamente fundamentada: sin embargo, la renal parece la más débil, especialmente para aquellas numerosas formas de gota en las cuales no se consigue descubrir ninguna alteración de la función renal. Hay seguramente una gota renal y un riñón gotoso, y tal vez pueden influir los factores renales en la gota saturnina; pero por recientes observaciones de LOEWENHARDT (1), de SCHITTENHELM y de sus discípulos, no se puede tampoco generalizar esta concepción demasiado exclusiva. La gota es una enfermedad general y es quizá más justo buscar su patogenia en factores histógenos, en el metabolismo intermedio. BRUGSCH ha dado importancia a factores nerviosos: este autor (2) admite un centro nervioso medular, cuya estimulación aumentaría la eliminación de purinas endógenas (de alantoína en el perro); la sección de los esplácnicos (3) destruiría este efecto. Sobre esto BRUGSCH funda una verdadera *teoría nerviosa* de la gota. La eliminación en exceso de ácido úrico después de comidas apurínicas sería debida, según él, a la estimulación de este centro. Su excitabilidad estaría disminuída en el gotoso.

Tienen un cierto valor las observaciones recientes de STEUDEL (4) acerca de las relaciones entre la fermentación intestinal y las purinas endógenas; STEUDEL cree que el régimen, hasta el apurínico, al determinar la formación de abundantes secreciones gastro-intestinales con gran cantidad de bases púricas, puede dar lugar, por reabsorción intestinal, a un aumento del ácido úrico verdaderamente endógeno (esto ya ha sido expuesto por otros autores; véase pág. 654); pero además pone de relieve que la flora intestinal actúa sobre estas bases, destruyéndolas más o menos y oponiéndose a su reabsorción; de donde se deduce que la gota puede provenir de una insuficiente destrucción bacteriana de las bases púricas en el intestino. Estas observaciones aclararían desde otro punto de vista, distinto del del ácido úrico enterotropo ya citado en la página 652, la eficacia de las curas dietéticas e hidroterápicas, a

(1) *Klin. Woch.*, 1922, n.° 47.
(2) *Mediz. Klin.*, 1922, n.° 18.
(3) DRESEL y ULLMANN, *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXIV, 1921.
(4) *Klin. Woch.*, 1923, n.° 36.

base principalmente de aguas más o menos laxantes, que modificarían la flora intestinal e impedirían la reabsorción de muchas de las bases púricas llegadas al intestino.

Resumen dietético. — La base del régimen alimenticio en la gota consistirá en reducir el aporte exógeno de purinas, evitando, sin embargo, la alimentación demasiado abundante, *hasta con alimentos apurínicos*, por las razones expuestas anteriormente sobre la relación entre la alimentación y el ácido úrico endógeno.

El cuadro expuesto a continuación da una idea general acerca del contenido en purinas de varios alimentos.

Cantidad de purinas (libres o incluídas en núcleoproteidos) contenidas en 100 *gr. de varios alimentos crudos, expresada en mgr. de ácido úrico, según* BESSAU-SCHMID (1) y NOORDEN y SALOMON (2):

Molleja (timo de ternera)	990-1400
Hígado de buey	278
Riñón de buey	242
Carnes musculares (buey, cerdo, carnero)	78-170-300 (término medio 120)
Cerebro	84
Carne de gallina, pichón, faisán	87-174
Peces de agua dulce	51-168
Anchoas	435
Salmón	72
Ostras	87
Crustáceos	60-70
Leche, huevos (hasta de pescado, como el caviar), lacticinios varios, embutidos de sangre	indicios
Té	2700
Café tostado	1160
Cacao	1500 media
Lentejas	162
Guisantes	81
Espinacas (es la verdura más rica en purinas)	72
Judías	51
Espárragos	24
Setas	15
Judías tiernas	6
Patatas	6
Frutas, coles, sandías, cebollas, cereales, pan (blanco), pastas, tapioca	indicios
Vino	indicios
Cerveza	12
Caldo, de 100 gr. de carne aproximadamente	45

Observaciones al cuadro. — La cantidad de purinas contenida en las *carnes* varía mucho según las distintas regiones del cuerpo y sobre todo según se analicen los extractos obtenidos por ebullición, como hicieron OFFER y ROSENQUIST, o toda la masa de la carne, incluyendo las purinas de los núcleos, como hizo KÖNIG (3): los primeros obtuvieron para la carne de buey para el cocido valores del N púrico (que, multiplicado por 3, da las purinas), de 0,025-0,05 %; para la de ter-

(1) *Therap. Monatshefte*, 1910, pág. 116.
(2) *Handb. d. Ernährungslehre*, Springer, Berlín, 1920.
(3) Véase V. NOORDEN y SALOMON, op. cit., pág. 162 y sig. del vol. I.

nera, de 0,027-0,037, y para la de gallina (muslo), de 0,023-0,039; mientras que KÖNIG da la siguiente lista:

Buey	0,052-0,059 % de N púrico
Gallina	0,052
Cerdo	0,048
Ternera	0,046
Cordero	0,039
Conejo	0,038
Timo (ternera)	0,402
Hígado (ternera)	0,099-0,110
Jamón ahumado	0,046

Se observa que el color de la carne no da ninguna idea acerca de la riqueza en purinas: la famosa prescripción de las carnes blancas carece de fundamento. También los análisis de FELLENBERG (1) demuestran que la carne de buey contiene una proporción bastante variable de purinas, con 0,024-0,055 de N púrico (para 100 de substancia fresca); además, su riqueza se reduce mucho después de hervirla (muchas purinas pasan al caldo; el cocido está relativamente empobrecido en purinas) y, finalmente, que dicha carne no es la más rica en purinas, ya que el pichón, por ejemplo, tiene 0,079 % de N púrico. QUAGLIARIELLO (2) encuentra que los músculos claros del buey contienen más N extractivo y especialmente más N púrico que los músculos rojos. Por lo tanto, para el gotoso es preferible un *cocido* de buey al pollo o al pichón asados. En general, las purinas solubles son menos abundantes en la carne de los animales jóvenes y pequeños, pero, en cambio, éstas son más ricas en purinas nucleares.

Las *vísceras* y las *glándulas* (timo, riñón, hígado, etc.) son siempre ricas en núcleos y, por lo tanto, en purinas.

En cuanto al *caviar* hay datos de KÖNIG y GROSSFELD, que han encontrado pequeñas cantidades de cuerpos púricos, y hasta sostienen estos autores que el caviar (huevos de esturión) es uno de los alimentos menos purínicos. El caviar es, pues, muy recomendable a los gotosos. Por el contrario, según los mismos (3), el esperma de los peces es rico en purinas, precisamente porque es rico en núcleos.

El café, el té y el cacao contienen purinas metiladas (cafeína, teofilina, teobromina) que el organismo desmetila parcialmente formando bases púricas comunes: en efecto, se ha observado un aumento de éstas, y a veces de ácido úrico, en la orina después del uso del café o té (4).

(1) *Bioch. Zeitschr.*, vol. LXXXVIII.
(2) *Zeitschr. f. Unters. d. Nahr. z. Genussm.*, vol. XXXV, 1918.
(3) *Zeitschr. f. Biochem.*, vol. LIV.
(4) BESSER, *Therap. d. Gegenwart*, 1909, pág. 321.

CAPÍTULO VII

El metabolismo del tejido nervioso y del músculo

a) RESUMEN ACERCA DEL TEJIDO NERVIOSO.

Dediquemos un breve resumen a esta cuestión, según corresponde a la índole de este libro. Muchos puntos de la química del tejido nervioso son aún discutidos y su estudio nos llevaría al de complejas cuestiones de Fisiología. Digamos solamente que, además de una substancia especial de sostén, la *neuroqueratina*, muy resistente a los disolventes y que contiene un 2,9 % de azufre, de varias *proteínas* (globulinas, etc.), uno o más *núcleoproteidos* e *inosita*, el tejido nervioso contiene en abundancia muchos *lipoides*, tales como colesterina, fosfátidos, sulfátidos y cerebrósidos (1): la riqueza en lipoides es la característica más saliente. Las proteínas son muy poco conocidas: parece que contienen poca glicocola o están exentas de ella, pero poseen un aminoácido especial, la nor-leucina (de cadena normal, es decir, no ramificada). La substancia gris es más rica (84 %) en agua que la blanca (70 %). Se encuentran muchos datos analíticos en los trabajos de PIGHINI (2). Entre los componentes inorgánicos, hemos de citar el Fe (en la *substantia nigra*, en el pallidus, etc.), el Ca y el Mg, de cuyos dos últimos metales I. NOVI (3) ha estudiado la distribución en el cerebro en las distintas edades.

REICHARDT (4) se ha ocupado particularmente de las condiciones de fijación del agua en los coloides cerebrales y ha definido como «Hirnschwellung» o *tumefacción cerebral* los períodos terminales de varias enfermedades mentales y nerviosas, en las cuales el cerebro aparecía engrosado, pero de aspecto seco y compacto, no con el aspecto característico del edema cerebral. Se ha discutido mucho por los neurólogos este dato necrópsico, que hay que tener en cuenta al pesar el

(1) Véase la monografía de S. FRAENKEL, acerca de la química del cerebro en *Ergebn. d. Physiol.* de ASCHER y SPIRO, VIII, 1909.
(2) Véase especialmente: *Bioch. Zeitsch.*, vol. CXXII.
(3) *Memoria R. Accad. scienze*, Bolonia, IX, 1912.
(4) *Monatschr. f. Psych. u. Neurol.*, vol. XXIV.

encéfalo, y se supone más o menos en relación con modificaciones coloidales y fenómenos de imbibición, quizá de aumento de la concentración en H-iones; la teoría de FISCHER acerca del edema, tal vez encuentra mejor aplicación en este caso, en el cual no se trata de edema o aumento del líquido intersticial, sino de fijación aumentada del agua, con aumento de peso y volumen, precisamente en la trama coloidal del órgano (1).

El metabolismo material y enérgetico del sistema nervioso es muy limitado: los procesos nerviosos conducen a descargas energéticas dotadas de gran poder sobre otros sistemas, las cuales no suministran energía, sino que *liberan* la previamente acumulada en los sistemas influenciados. El impulso nervioso se transmite por el *nervio*, por ejemplo, sin consumo de energía: es un proceso físico-químico reversible que no implica ninguna pérdida de material, que no va acompañado de desarrollo de calor, por lo tanto sin señales de metabolismo apreciable y, por lo tanto, sin aparición de una fatiga demostrable. El nervio, pues, no transmite energía al músculo; conduce solamente una onda de desequilibrio físico-químico reversible que ocasiona en el músculo la liberación de la energía previamente acumulada en él y latente en un sistema coloidal, como si produjera la distensión de un resorte previamente tendido o como la mecha que inflama la pólvora de una mina. No es la poca energía de la mecha o del fósforo lo que produce la explosión, sino la energía potencial acumulada en el explosivo, que se libera y produce un efecto potente; la mecha o el fósforo son pura y simplemente los *liberadores*. Es cierto que una pequeña chispa enciende una gran llama, pero solamente si hay el combustible necesario para que se produzca esta última.

Sin embargo, los *centros nerviosos* tienen un metabolismo material y energético bien demostrable, no solamente en reposo, sino también en relación con la excitación. Se han hecho muchas investigaciones sobre esta materia y particularmente en relación con la teoría de la narcosis. Entre ellas descuella la de WINTERSTEIN (2), quien ha analizado detenidamente el metabolismo de la médula espinal de la rana; el metabolismo del nitrógeno cesa en ella por la deficiencia del O_2 (al cual los centros nerviosos son sensibilísimos, como se desprende también de la patología humana) y en la narcosis; disminuye por la acción de ciertos iones ($K^{\cdot}$) y se eleva por efecto de otros ($Ca^{\cdot\cdot}$). La mejor fuente energética es la glucosa; también otras hexosas pueden ser utilizadas, pero no los disacáridos. Véase acerca de la narcosis, la Sección II, capítulo II.

Ya hemos dicho que la excitación está relacionada con el aumento de la permeabilidad de las membranas y con la reducción de los potenciales mantenidos por medio de la distribución de iones, que actúan

(1) Véanse los trabajos recientes : WEIL, *Zeitschr. f. d. ges. Neurol. und Psych.*, vol. LV, 1920 ; *Pflüger's Arch.*, vol. CXCII, 1921.
(2) *Die Narkose*, Springer, Berlín, 1919.

como vectores de cargas eléctricas, alrededor de las superficies coloidales. Los coloides proporcionan superficies límites y los iones se distribuyen de manera variable sobre estas superficies; así mantienen cargas eléctricas *diversas*, polarizan, por lo tanto, las superficies y establecen *potenciales*. En la excitación deben haber modificaciones reversibles de los coloides y, por lo tanto, mutaciones iónicas y modificaciones eléctricas. Los fenómenos bioeléctricos están, pues, esencialmente en relación con las diferencias de concentración iónica (GALEOTTI ha contribuído a demostrarlo con trabajos importantes), y la excitación, acompañada siempre de fenómenos eléctricos, consiste en mutaciones iónicas, siendo los H-iones, los más movibles y activos sobre los coloides, los que tienen mayor importancia (1). Si los iones son los vectores de las cargas, si los coloides proporcionan las superficies límites destinadas a recibir la carga eléctrica bipolar de los iones y si la excitación consiste en modificaciones de esta distribución iónica, se comprende que las sales más o menos ionizables y los agentes de todas clases que modifiquen el estado coloidal deben modificar la excitabilidad. Sabemos, por ejemplo, que cuando la corriente eléctrica galvánica pasa por un nervio, modifica diversamente la excitabilidad en el ánodo y en el cátodo; ahora bien, BETHE (2) y STUBEL (3) han encontrado que en estos puntos se modifica la colorabilidad del cilindroeje y su comportamiento respecto a la induración en alcohol; hay, por lo tanto, una modificación coloidal que refleja la de la excitabilidad. Los Ca-iones, que reducen la permeabilidad celular, por su acción de restricción, precipitación y desimbibición, son sedantes de la excitabilidad nerviosa, reducen la excitabilidad de los nervios y, como RONCORONI observó hace muchos años (4), disminuyen también la de la corteza cerebral. Ya hemos indicado en el capítulo correspondiente a las propiedades químico-físicas de la sangre, la acción opuesta del K, favorecedor de la excitabilidad, y también nos hemos ocupado de los antagonismos iónico-salinos, etc. Citemos también la acción deprimente de la excitabilidad motriz que posee el Mg, opuesta a la de un metal bastante afín como es el Ca (en la cual se funda el empleo de sales de Mg en el tratamiento del tétanos), quizá por influencia sobre las placas motoras; para detalles, véase un trabajo de MARKWALDER (5).

b) QUÍMICA DEL MÚSCULO.

En el hombre adulto los músculos forman el 40 % de la masa corpórea por término medio; si del resto se sustraen los tejidos, como los huesos, de metabolismo pequeño, se ve que los músculos constituyen una parte muy considerable de los tejidos blandos y de metabo-

(1) BETHE. *Pflüger's Arch.*, vol. CLXIII.
(2) *Zeitschr. f. Biol.*, vol. XXXIV.
(3) *Pflüger's Arch.*, vol. CXLIX y CLIII.
(4) *Riv. sper. di Freniatria*, vol. XXIX, 1903.
(5) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. V.

lismo muy activo; durante el trabajo muscular un poco intenso, los $^3/_4$ aproximadamente de las modificaciones metabólicas totales son debidas al sistema muscular. Los músculos y el hígado son asiento de los más intensos procesos químicos del cuerpo. El metabolismo en los músculos predomina, pues, en parte considerable sobre el del organismo entero.

Los músculos lisos y los estriados forman los dos tipos extremos de tejido muscular. En todos hay un *sarcoplasma*, en el que están sumergidas las miofibrillas o *sarcostilos*, que tienen una disposición longitudinal en el elemento muscular y son claramente perceptibles, sobre todo por la acción de los agentes coagulantes de las proteínas.

El *músculo estriado*, tratado por agentes disolventes de las proteínas (digestión clorhidropépsica), presenta una resolución en segmentos transversales o *discos de* Bowman. Recordemos que la fibra del músculo estriado (voluntario, esquelético) presenta la alternativa característica de discos claros y oscuros, y que estos últimos son birrefringentes (aparecen iluminados en el campo oscuro que se obtiene cruzando los dos nicoles del microscopio polarizador); pero en la contracción, según Engelmann, los discos birrefringentes (anisótropos) aumentan de volumen a expensas de los monorrefringentes (isótropos), y de oscuros se vuelven claros; o sea que al microscopio ordinario se ven también discos claros y oscuros, pero los claros ocupan ahora el lugar de los que aparecerían oscuros en la fibra no contraída, y si se intercala la fibra contraída en el polarizador, los discos claros son los que se manifiestan birrefringentes, y no los oscuros. *Los músculos lisos tienen más sarcoplasma* que los estriados; éstos, por el contrario, presentan mayor desarrollo fibrilar. Los lisos tienen un tono automático y actividad rítmica también automática. Los estriados dependen de la voluntad, tienen un tono principalmente reflejo. La *teoría de* Bottazzi de que el sarcoplasma es el asiento del tono muscular, encuentra actualmente gran aceptación. Entre los dos tipos extremos hay formas intermedias, como el músculo cardíaco (estriado, pero involuntario y con amplio automatismo), los músculos de las pinzas del cangrejo, etc. Los músculos lisos tienen una contracción más lenta que los estriados, pero el tiempo de latencia es más largo para los primeros.

Si se exprimen los músculos, se obtiene un jugo denso y viscoso, rico en proteínas, que se llama *plasma muscular*, y que presenta, visto al ultramicroscopio, puntos brillantes, animado de movimiento browniano (Bottazzi). El plasma es alcalino al tornasol, pero se vuelve fácilmente ácido por procesos de autolisis; tiene, según Galeotti, una concentración en H-iones de 10^{-10}, y, según Porcelli-Titone, de $1{,}6 \cdot 10^{-7}$, determinada en músculos de rana, en reposo (1). El plasma

(1) Los datos bibliográficos que se refieren a este párrafo se encuentran en la reciente revista de Costantino *(Arch. Scienze biolog.*, vol. IV, n.° 3-4, 1923); en los trabajos fundamentales de Bottazzi y Quagliarello *(Arch. intern. de physiol.*, vol. XII); y en los originales del mismo Constantino ya citados; además, véase v. Fürth, *Problema d. physiol. und pathol. Chemie.*

se mantiene flúido durante mucho tiempo solamente a temperaturas bajas, alrededor de 0°; si se eleva la temperatura, hay una coagulación que tiene cierta semejanza con la de la sangre, formándose un coágulo y un suero. Se ha hablado de factores enzimáticos; pero, según Bottazzi y Quagliariello, se trata únicamente de una precipitación espontánea de gránulos ultramicroscópicos (fragmentos de miofibrillas), y los factores externos no hacen más que acelerarla. Según las ideas corrientes, se distinguen dos proteínas en el plasma muscular: la miosina y el miógeno (Parte I, pág. 142), que son espontáneamente coagulables y transformables respectivamente en *miosinfibrina* y *miogenfibrina* (ésta es soluble al principio y coagulable a 35°, pero luego se vuelve insoluble). Según v. Fürth, se podría expresar la coagulación del plasma muscular por el siguiente esquema:

miosina → miosinfibrina,
miógeno → miogenfibrina soluble → íd. insoluble.

Sin embargo, no es completamente inverosímil la existencia de una sola proteína muscular. Bottazzi cree que la miosina deriva de las miofibrillas, y el miógeno (mioproteína verdadera), del sarcoplasma. En realidad, parece que los músculos lisos contienen más proteínas del tipo del miógeno. Según v. Fürth, en los músculos de los heterotermos, estaría preformada la miogenfibrina soluble, o sea una proteína coagulable a los 35°, que naturalmente no podría existir en los músculos de los vertebrados de sangre caliente, pero en los que se forma (véase esquema antes expuesto) a expensas del miógeno después de la muerte.

Se deben a Buglia y Costantino (1) para el toro y a Gayda (2) para el caballo, análisis químicos cuidadosos y completos (hidrólisis y determinación de las distintas facciones nitrogenadas) acerca de las proteínas y otros compuestos nitrogenados de los músculos de varios animales, y este último ha hecho, además, interesantes consideraciones técnicas acerca de la aplicación del método de v. Slyke a las carnes musculares (que contienen, por ejemplo, creatina que, transformada en creatinina en el hidrolizado, precipita por el ácido fosfotúngstico junto con el N básico).

Se encuentran pequeñas cantidades de *núcleoproteidos* en los músculos, hasta en los lisos según Costantino.

Encontramos en los músculos abundancia de substancias púricas libres (xantina, hipoxantina, guanina, ácido úrico, carnina), además de las comprendidas en los escasos núcleoproteidos. En conjunto hay mayor cantidad de purinas en los músculos estriados que en los lisos.

Citaremos luego la riqueza en substancias nitrogenadas extractivas, de las cuales algunas ya han sido estudiadas: creatina (pág. 636), substancias púricas (pág. 661), etc.

(1) *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. LXXXI, 1912.
(2) *Biochem. Zeitschr.*, vol. LXIV, 1914.

Según Buglia y y Costantino, en 1000 gr. de músculo liso fresco de buey se encuentran 0,45 gr. de N de los aminoácidos; en 1000 gr. de músculo cardíaco hay 0,36 gr. de este mismo elemento.

En cuanto a la *carnosina* (dipéptido de histidina y β-alanina), se encuentra en 1000 gr. de músculo:

músculos lisos de buey.....	gr. 1,45 de este cuerpo (Buglia y Costantino);
músculos estriados de perro	» 4,23-4,71 (v. Fürth y Schwarz);
músculo cardíaco.....	» 3,46-4,39 (Buglia y Costantino).

La *carnotina* o *novaína* (α-oxi-γ-butirobetaína) se encuentra en proporción de 0,30 a 1,9 gr. por 1000 gr. de músculo estriado.

En los músculos estriados hay también pequeñas cantidades de metilguanidina (0,58-0,47 por 1000). Hay siempre *urea*, como en todos los tejidos, por su gran difusibilidad; abunda en los músculos de los selacios.

Respecto a la *creatina*, Buglia y Costantino encuentran 1,12 gr. en 1000 gr. de músculos lisos de buey, 3,65 gr. en los estriados y 2,46 gr. en el miocardio. Otros autores hallan para el N de la creatina valores de 1-1,8 por 1000 en el músculo estriado, 0,73-0,79 por 1000 en el miocardio y 0,32-0,29 por 1000 en los músculos lisos de varios mamíferos. El corazón está comprendido, hasta por lo que se refiere a la composición química, entre los músculos lisos y los estriados (los sobrepasa a todos, sin embargo, en su *gran riqueza en lipoides)*.

Se deben a Emmerich y Domagk (1) análisis químicos cuidadosos del corazón en varios estados morbosos: sus trabajos se refieren principalmente a la proporción de N proteico y de N no coagulable. Este último no aumenta en los corazones hipertróficos, si no existen lesiones renales simultáneas, y tampoco aumenta durante el curso de la tuberculosis pulmonar o de las supuraciones. En los corazones atróficos aumenta frecuentemente la proporción de agua. Sería característico de los niños atrépsicos la disminución del N coagulable y el aumento de la proporción de agua.

Para la riqueza en *grasas* y *lipoides* de varios músculos, transcribimos este cuadro de Costantino:

	100 gr. de músculo de buey contienen		
	m. estriados	m. cardíaco	m. lisos
Acidos grasos + substancias insaponificables (colesterina, etc.).....	14,8	19,56	8,39
Acidos grasos superiores.....	9,76	16,13	5,85
Fósforo de los lipoides.....	0,256	0,670	0,2763

Según Emmerich y Domagk (2), en las anemias y en las insuficiencias aórticas aumentan las grasas en el corazón.

(1) *Klin. Woch.*, 1924, n.° 2.
(2) Loc. cit.

Adviértase como, además de los lipoides en general, los fosfátidos abundan especialmente (proporción elevada de P lipoide) en el corazón (cruorina).

De los hidratos de carbono se encuentran la glucosa, el glucógeno (cerca de 0,6-1 %; en el caballo, 2-3 %) y pentosas. El glucógeno es más abundante en el corazón, especialmente en el fascículo primitivo (pág. 553). El glucógeno de los músculos es más tenazmente conservado, durante el ayuno, estados convulsivos (estricnina) y diabetes que no el hepático.

El *ácido láctico* (dextrógiro, con $(\alpha) = +3,5°$, cuyas sales de zinc, características y levógiras, son fácilmente solubles en agua y poco en alcohol) es un constituyente esencial de los músculos; aumenta mucho en la fatiga y representa la causa principal de la acidificación del músculo fatigado. Se forma del azúcar durante la contracción, y se acumula, hasta un 0,5 %, si la contracción se realiza en condiciones anaerobias (mientras que si la contracción tiene lugar en presencia de O_2, desaparece rápidamente) o si el músculo (rana) se contrae en solución bastante alcalina de manera que se facilite la extracción del ácido del músculo (1).

El *fósforo* se encuentra en los músculos en forma orgánica y en forma inorgánica: el primero es el P de los núcleoproteidos, de ciertos mononucleótidos libres (ácido inosínico, compuesto de ácido fosfórico, d-ribosa e hipoxantina, cuyo primer producto de escisión es el nucleósido inosina) y del complejo y mal conocido ácido fosfocárnico; también debe incluirse entre el P orgánico el de los lipoides, y, finalmente, el que está unido en forma de ácido fosfórico con las hexosas, constituyendo los ésteres *hexosofosfóricos (lactacidógeno*, véase más abajo): se trata en este último caso de verdaderos ésteres del ácido fosfórico con la glucosa o con otras hexosas, como se encuentra en las levaduras (combinación de fructosa con ácido fosfórico), comparable al ácido inositofosfórico o *fitina*, que es una combinación fosforada de la inosita de los vegetales (también en los músculos hay verdadera *inosita)*. El P inorgánico está en forma de fosfatos monosódicos, sus componentes salinos más importantes.

El *azufre* está casi todo contenido en las proteínas, muy poco en forma de sulfatos. En el trabajo citado de Costantino se encuentran datos minuciosos acerca de los elementos inorgánicos contenidos en el músculo, que no se apartan mucho de los respectivos del plasma sanguíneo.

El color rojo de los músculos estriados es debido a un pigmento parecido, pero no igual, a la hemoglobina *(miocromo de* Mörner); parece que existe un grupo cromógeno igual unido a un constituyente proteico distinto. En general, la cantidad de miocromo es proporcional a la frecuencia e intensidad del trabajo muscular; disminuye en los

(1) Meyerhof, *Pflüger's Arch.*, vol. CXCI.

individuos caquécticos, después de la sección de los nervios motores, etc.

El color rosado de la carne de salmón se debe a un lipocromo especial.

c) Contracción muscular.

La modificación del músculo en la contracción consiste en la producción de una tensión: el músculo, como dice Bayliss, cambia sus propiedades desde las de un resorte de acero no tenso a las de un resorte en tensión, sin que necesariamente varíe su longitud (contracción *isométrica)*, pero disminuyéndola en el sentido de un acortamiento cuando existe esta posibilidad. A la contracción sigue después la *relajación*, durante la cual el músculo vuelve al estado primitivo.

Un músculo normalmente excitable y en estado de reposo es un sistema químico-físico que contiene energía potencial; por efecto del estímulo se libera ésta como energía de tensión, que puede ser empleada para la ejecución de un trabajo o ser degradada en calor.

El hecho fundamental, que en la actualidad está completamente aclarado por numerosas investigaciones, es el siguiente: el músculo no consume O_2 ni libera CO_2 al contraerse; por lo tanto, la contracción no tiene su correspondencia química en una oxidación. En la contracción se forma ciertamente ácido láctico y se consume glucosa, pues parece comprobado que sólo la glucosa (y la levulosa) puede ser utilizada directamente por el músculo que trabaja y las otras substancias (grasas) deben ser, y probablemente *no en el mismo músculo*, transformadas primero en glucosa para que el músculo pueda aprovecharlas. Ahora, y con estas premisas, comprenderemos por qué el metabolismo muscular en la fase de contracción debe asemejarse mucho a un proceso de fermentación anaerobia y tampoco se aparta gran cosa de la primera fase de la desintegración del azúcar, aun fuera del músculo, descrita en el capítulo III, fase caracterizada por la transformación del azúcar, sin intervención de O_2, en cuerpos con tres átomos de C, entre los cuales precisamente figura el ácido láctico.

En efecto, el músculo, separado del cuerpo, puede contraerse perfectamente y durante bastante tiempo sin intervención de O_2, y es precisamente entonces cuando se eleva claramente el acúmulo de ácido láctico. Por el contrario, si el O_2 es proporcionado en abundancia, desaparece rápidamente el ácido láctico que se forma poco a poco y no puede ser fácilmente demostrado más que en el músculo muy fatigado; sin embargo, es notable que la fatiga aparece mucho más tarde en el músculo provisto de O_2.

Podemos, pues, admitir que hay dos fases distintas en los procesos metabólicos referentes a la contracción: la primera, la de la puesta en tensión o *contracción* verdadera, anaerobia, con desintegración del azúcar en ácido láctico; la segunda, la de la *restauración*, que en este caso aparece como *relajación*, en la cual hay consumo de O_2, formación

de CO_2 y desaparición del ácido láctico formado en la primera fase, sea porque es oxidado ulteriormente o porque (Meyerhof) es vuelto a condensar en glucosa o glucógeno. No se sabe todavía con certeza si la oxidación ulterior es el proceso principal, precisamente el que implica el consumo de O_2, o bien si para la restauración es consumido nuevo azúcar con verdadera combustión y consumo de O_2. Meyerhof admite que al quemarse una molécula de glucosa vuelve a sintetizar en forma de hidrato de carbono 8 moléculas de ácido láctico. (Véase Sección III, Cap. III.)

La primera fase, la que se revela porque el músculo adquiere una energía de tensión, transformable en trabajo mecánico o en calor, debe implicar una especie de descarga de un sistema dotado de una energía potencial; no se trata de un sistema químico, no se trata de energía almacenada en materiales combustibles que es liberada por un proceso de oxidación. El azúcar es ciertamente empleado, pero no es exacto decir que éste se utiliza como combustible en el verdadero proceso de la contracción, porque en la contracción no hay una combustión. Hay formación, con escaso efecto térmico, de ácido láctico a expensas de la glucosa, y el ácido láctico es probablemente el agente que, casi con toda seguridad y en virtud de sus H-iones, modifica un sistema coloidal presente en el músculo y provisto de energía de superficie. El ácido láctico podría obrar modificando el estado de imbibición de ciertos coloides musculares y precisamente de los elementos de las fibrillas o disdiaclastos, tanto más cuanto sabemos que los H-iones favorecen la imbibición de muchos coloides hidrófilos; también podría modificar la tensión superficial en el límite de las fibrillas con el sarcoplasma, puesto que sabemos que los H-iones son activos modificadores de la tensión superficial. De todas maneras se trata de un desarrollo de energía latente en los coloides y no de una transformación directa de la energía química en trabajo mecánico, tal como sucede en una máquina térmica.

En efecto, el rendimiento de esta primera fase del proceso contráctil es casi del 100 %, y no existen dispersiones térmicas notables fuera de las derivadas de los rozamientos: el trabajo muscular se hace, pues, a expensas de la energía contenida en sistemas coloidales.

Mas luego con el relajamiento o cesación del estado de tensión debe volver el sistema coloidal al estado primitivo: esto es, debe ser restituído a aquel sistema la energía perdida, deben ser reintegradas las superficies o debe ser distribuída el agua de imbibición tal como estaba antes de la contracción; es decir, debe crearse de nuevo el sistema cargado de energía potencial a fin de volver a tenerlo dispuesto para nuevas descargas sucesivas. Para esto se necesita una reacción química, que es una oxidación, la cual se verifica a expensas de $^1/_3$-$^1/_6$ de ácido láctico resintetizando el resto en forma de glucógeno, o se realiza a expensas de nueva glucosa, resintetizando todo el ácido láctico en forma de glucógeno. De todas maneras, el ácido láctico desaparece, principalmente porque es resintetizado en forma de

hidrato de carbono, cuya resíntesis se verifica a expensas de la energía proporcionada por una *reacción acoplada* de oxidación, exotérmica, acompañada igualmente de una notable pérdida de energía en forma de calor (véase Sec. III. Cap. III, *b)*. Así, según las ideas de MEYERHOF, puede decirse que el azúcar es el combustible muscular en cuanto es quemado completamente en la fase de relajación o de restauración y proporciona de este modo la energía para volver a cargar el sistema coloidal. Se puede, con BAYLISS, hacer la comparación siguiente: supongamos una máquina térmica, por ejemplo de gas, que quema combustible y pone en movimiento una bomba que comprime aire en un depósito, y que el aire comprimido es utilizado luego para realizar varios trabajos. El combustible no sirve directamente para estos trabajos, sino solamente para cargar el depósito de aire comprimido. En la contracción hay la descarga del depósito; en la restauración se vuelve a llenar por medio de la energía química del combustible. El rendimiento *total* del mecanismo en el músculo es de un 50 % para el músculo aislado, de un 30 % para el músculo en el organismo (HILL); es decir, que de la energía producida por el combustible (azúcar), el 30-50 % reaparece como trabajo mecánico y el resto es en gran parte disipado en la fase de relajación, en la reacción exotérmica oxidante, en forma de calor, que, sin embargo, sirve abundante y principalmente en los homeotermos para mantener la temperatura normal del cuerpo; los músculos son uno de los principales generadores de calor del cuerpo. Es de todas maneras un rendimiento enorme, en comparación con el de las máquinas corrientes, que a lo sumo rinden el 10-12 %.

Recientemente se han podido hacer otras interesantes comprobaciones sobre el quimismo de la contracción muscular, precisamente sobre la manera cómo es utilizada la glucosa: el metabolismo de ésta está íntimamente relacionado con el de un constituyente inorgánico, el ácido fosfórico. EMBDEN, GRIESBACH y SCHMITZ, confirmando en parte observaciones más antiguas, comprobaron que en el músculo que trabaja crece el fósforo inorgánico y soluble a expensas del orgánico, y precisamente que la formación de ácido fosfórico es paralela a la de ácido láctico (1). EMBDEN llega en consecuencias a la concepción del *lactacidógeno*, un compuesto de glucosa con ácido fosfórico, un éster hexoso-fosfórico que, junto con LAQUER (2), cree haber aislado del músculo combinándolo con la fenilhidracina: el lactacidógeno sería un verdadero producto de condensación de la glucosa con ácido fosfórico, del tipo de un éster, y la glucosa podría ser atacada rápidamente para producir ácido láctico siempre y cuando estuviera incluída en este compuesto. En el trabajo muscular, el lactacidógeno se escindiría en ácido láctico y ácido fosfórico, que aparecen en cantidades equimoleculares (COSTANTINO no confirma la exactitud de esta regla), y, por lo tanto:

(1) *Zeitschr., f. Physiol. Chemie*, vol. XCIII, 1914.
(2) *Id.*, vol. XCIII, XCVIII y CXIII.

$$\text{Lactacidógeno (éster hexoso-fosfórico)} \rightarrow \begin{cases} \text{2 moléculas de ácido láctico (de una de hexosa)} \\ \text{2 moléculas de } H_3PO_4. \end{cases}$$

EMBDEN cree (1) que se puede dosificar el ácido fosfórico en el músculo, según un método expuesto por él, para saber así cuánto ácido láctico se ha formado. En los órganos existiría un fermento capaz de escindir el lactacidógeno. He aquí, pues, cómo se justifica el aumento de la eliminación de ácido fosfórico por la orina después de un trabajo muscular intenso, comprobado por EMBDEN y GRAFE (2). Pero generalmente el músculo economiza el ácido inorgánico, que le sirve para provocar la entrada en el engranaje químico del azúcar que hay que utilizar en la actividad funcional: el azúcar no es rápidamente transformado en ácido láctico si no está unido a esta especie de cofermento que sería el ácido fosfórico, lo cual quizá explica una acción análoga en la fermentación alcohólica (efectivamente, en las levaduras se encuentran también ésteres del ácido fosfórico con hexosas, y, por otra parte, el jugo muscular puede obrar como cofermento de la fermentación alcohólica). En el trabajo muscular el ácido fosfórico vuelve a liberarse y puede ser utilizado para fijar nuevo azúcar, y así sucesivamente. La formación de lactacidógeno está, según EMBDEN, en relación con la rapidez de la contracción muscular, con la prontitud del músculo para el trabajo: comparando los músculos estriados con los lisos se encuentra más fósforo inorgánico (ácido fosfórico del lactacidógeno) en los primeros que en los segundos, que tienen muy poco; de un modo correlativo, los primeros se contraen mucho más rápidamente, y los segundos siempre con mayor lentitud.

Es interesante la comparación entre los músculos estriados blancos (contracción rapidísima y poco duradera) con los estriados rojos (contracción lenta y sostenida): los segundos contienen menos ácido fosfórico y más P orgánico, es decir, P unido a compuestos orgánicos complejos, que necesitan descomponerse para liberar el ácido fosfórico capaz de formar lactacidógeno.

EMBDEN supone que los compuestos citados representan una especie de reserva para el P, como el glucógeno para el azúcar; su abundancia está en relación inversa con el fósforo inorgánico o del lactacidógeno. La gallina, que tiene músculos pectorales blancos, es un animal de vuelo corto pero rápidamente iniciado; posee, por lo tanto, una gran prontitud funcional, y tiene en estos músculos mucho lactacidógeno y poco fósforo residual u orgánico. En cambio, la paloma, cuyo vuelo es sostenido, tiene músculos pectorales más ricos en P residual o de reserva (orgánico) y más escasos en lactacidógeno.

EMBDEN aplica estas nociones a la práctica: es necesario la administración de grandes cantidades de fosfatos a los trabajadores manuales

(1) *Zeitschr. f. Physiol. Chemie*, vol. CXIII.
(2) *Id.*, vol. CXIII, 1921.

si se quiere un buen rendimiento del trabajo muscular. En realidad la administración de alimentos fosforados (salvados, harinas de cereales, levaduras) tiene eficacia, como se desprendería de datos ergométricos, y hasta se ha llegado a poner a la venta un *recresal*, que es una solución aromatizada y edulcorada de fosfato monosódico, con objeto de favorecer la actividad muscular en obreros, soldados, *sportmen*, etc. El músculo, por lo tanto, sólo utiliza directamente el azúcar para su propio trabajo: desde el punto de vista de la producción de trabajo muscular, las leyes de la isodinamia sirven para las grasas en tanto éstas son transformadas en azúcar, sufriendo un principio de oxidación, pero fuera del músculo, por ejemplo en el hígado; así se pierde un poco de la energía contenida en los alimentos grasos, pérdida que hace que la ley citada sea inexacta en este caso. Es natural que las proteínas también puedan servir como fuente de energía al músculo en cuanto son capaces de formar azúcar. Pero en el trabajo muscular medio, que no produce un gasto profundo de la trama proteica del músculo (como sucede en la fatiga grave, que es una verdadera autointoxicación), no hay modificación del metabolismo nitrogenado (capítulo IX, *b*). El hecho de que el cociente respiratorio del músculo aislado es igual a 1 demuestra que los hidratos de carbono son el material de utilización directa para el músculo que trabaja. En cuanto a la influencia iónico-salina sobre el músculo, véase Sección II, capítulo VI, *c*.

Según recientes observaciones de EMBDEN y de sus alumnos (1), la clásica teoría de MEYERHOF-HILL que hemos expuesto, según la cual la formación de ácido láctico sería la causa de la modificación del acumulador físico, esto es, del sistema coloidal del músculo y, por lo tanto, de la contracción, quedaría profundamente modificada.

Ante todo, EMBDEN afirma que el éster hexosio-fosfórico o lactacidógeno no es, por lo menos en los músculos frescos de conejo, una combinación de la hexosa con *dos* moléculas de ácido fosfórico, sino con *una sola;* por lo tanto, tenemos, no un compuesto hexosiodifosfórico, sino un compuesto hexosiomonofosfórico. Este compuesto tiene una disociación, en el sentido de la acidez, mayor que el ácido fosfórico libre que se forma en el momento de la contracción, o sea es *más ácido* que éste. Por esta razón, por lo tanto, la reacción en el momento de la contracción debe hacerse menos ácida, esto es, virar hacia la alcalinidad. Pero hay otra causa por la cual al comienzo de la contracción debe hacerse más alcalina: en el músculo se forma amoníaco (NH_3) que procede de la desaminación del ácido adenosínico o adenosinfosfórico, que es un mononucleótido presente constantemente que contiene como base la adenina: ésta se transforma en hipoxantina y se libera el NH_3. Por lo tanto, al comienzo de la contracción, en contra de la teoría de MEYERHOF-HILL, hay una alcalinización: ésta es la que modifica el sistema coloidal.

(1) *Klin. Woch.*, 1927, n.° 14.

Hacia el final, y después de la contracción, se acumula ácido láctico (procedente del glucógeno) y hace virar a ácido la reacción. La *substancia de acortamiento* sería el lactacidógeno y el ácido adenosínico, porque producen la disminución de la concentración de los H-iones al desintegrarse; el ácido láctico pasaría a desempeñar el papel de *substancia de relajación*.

La cuestión no está todavía resuelta.

El músculo tiene también un *metabolismo* de *reposo;* en efecto, un músculo de rana, en reposo, consume 40 mm. c. de O_2 por gramo y por hora. En este metabolismo de reposo son también atacadas las proteínas (de donde la formación de creatina) y las substancias nucleares (de las que proceden los nucleótidos y purinas libres en el músculo).

Se ha discutido mucho el problema de la *rigidez cadavérica* del músculo: pocas horas después de la muerte el músculo se vuelve rígido y se acorta, se hace opaco y adquiere reacción ácida. La masa muscular presenta, pues, una especie de coagulación, que algunos (v. FÜRTH, etc.) tienden a considerar como debida a formación de ácidos que ejercen una acción favorable sobre la imbibición de los coloides musculares: en el fondo habría una imbibición como la admitida en la contracción vital, sólo que, faltando la fase resolutiva con el proceso de oxidación correspondiente, los ácidos formados no serían destruídos o reintegrados a hidratos de carbono, como sucede en la fase de relajación subsiguiente a la contracción vital, y, por lo tanto, la alteración coloidal sería permanente. El ácido que ejerce principalmente una acción de imbibición es también en este caso el ácido láctico. La rigidez cadavérica se resuelve sólo más tarde, por los procesos autolíticos y de putrefacción que disuelven las proteínas coaguladas. Sin embargo, otros autores creen poder sostener la existencia de procesos enzimáticos a base de la rigidez cadavérica.

Conocemos otras formas de rigidez por coagulación del músculo: la *térmica*, que corresponde a la coagulación térmica de las proteínas, las producidas por la cafeína, la quinina, el monobromacetato sódico y la veratrina, y la del cloroformo, estudiada por HERLITZKA (1), quien demuestra que todas las substancias lipoidolíticas producen un verdadero acortamiento muscular, y pone, por lo tanto, en evidencia la importancia de los lipoides en el acortamiento muscular.

Según MEYERHOF también en estas varias formas de rigidez hay un acúmulo de ácido láctico que sería igualmente un factor esencial: así, según observaciones recientes (2), la contractura térmica, cafeínica y por el cloroformo, sería más acentuada en los músculos de los animales sometidos a régimen de hidratos de carbono, o sea en los músculos

(1) *Arch. di Fisiol.*, vol. XIV, 1916.
(2) *Klin. Woch.*, 1924, n.° 10.

más ricos en glucógeno y, por lo tanto, más capaces de producir ácido láctico.

En la fatiga se acumulan en el músculo, además del ácido láctico y del ácido fosfórico (del lactacidógeno), otras substancias complejas, quizá productos de escisión proteica, de acción verdaderamente tóxica, las *quenotoxinas* de WEICHARDT. La fatiga prolongada puede acabar por producir una rigidez y es una condición favorable a la aparición de ciertas formas de la misma, por ejemplo la producida por la quinina.

CAPÍTULO VIII

Las correlaciones funcionales

El organismo posee medios perfectos y complicados de regulación de las diversas funciones : en todos los órganos los distintos actos metabólicos se realizan con una intensidad y con un ritmo determinados y cada órgano trabaja armónicamente con todos los demás ; hasta en los estados morbosos permanecen en juego, y a veces se afinan, los mecanismos de correlación, de adaptación o de compensación, y se instituyen nuevas adaptaciones y compensaciones para suplir las deficiencias o desviaciones funcionales de los órganos enfermos.

Los mecanismos reguladores son de varias clases : cada órgano toma una parte mayor o menor en los procesos generales del metabolismo (así, en cada órgano se desarrollan procesos de oxidación con eliminación de CO_2 a la sangre), se efectúan fenómenos de desintegración por la acción de endofermentos *(endotriptasas)* cuya acción desbordada se observa en los experimentos de autodigestión (o *autolisis* aséptica *in vitro)* de los órganos, se realizan fijaciones de aminoácidos para la reconstrucción protoplasmática, etc.

Todos los órganos, pues, tienen una función reguladora en este sentido general, porque los productos celulares generales son a su vez excitantes y reguladores respecto a otros elementos celulares o respecto a determinadas funciones.

El ejemplo más citado es el del CO_2, producto celular universal, que tiene una función específicamente excitante para el centro respiratorio. Pero probablemente podemos extender esta concepción en el sentido de que muchísimos productos metabólicos son verdaderos reguladores de las respectivas secciones del metabolismo intermedio y, por lo tanto, los mismos materiales de origen alimenticio tienen poder regulador, prescindiendo del que es propio de los reguladors exógenos altamente específicos : las vitaminas. GOTTSCHALK y NONNENNRUCH (1) han encontrado que una mezcla de aminoácidos colocada en el interior del intestino, al ser reabsorbida excita de una manera acentuada los fenómenos de desintegración que a expensas de las proteínas se producen en el hígado y produce una hiperaminoacidemia superior

(1) *Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmacol.*, vol. XCVI y siguientes.

a la que correspondería al aporte alimenticio, y es cuantitativamente independiente de éste. Investigaciones recientes de HASHIMOTO y PICK (1) han demostrado que la inyección parenteral de proteínas heterólogas o de productos elevados de escisión proteica es causa de una eliminación de N superior a la cantidad introducida, por efecto de acentuarse los procesos autolíticos, especialmente en el hígado.

Así, STAUB (2), TRAUGOTT (3) y GOTTSCHALK (4) tienden a demostrar que la introducción de azúcar por vía alimenticia puede producir una hiperglucemia que rebasa la cantidad aportada por una verdadera acción irritante del azúcar sobre los procesos de escisión del glucógeno de reserva, y ya era un hecho conocido desde hace tiempo el que en la diabetes algunas veces el azúcar eliminado es superior al introducido, de la misma manera que la administración de proteínas en los casos graves produce una descarga de N urinario en exceso.

También para los cuerpos púricos JOEL (5) ha encontrado una acción excitante de la eliminación de los mismos, cuando se administran pequeñas dosis de purinas alimenticias: éstas, dice, hacen casi el efecto del *atophan*, con la diferencia de que bien pronto ceden nuevo material purínico al organismo. En consecuencia, GOTTSCHALK (6) se cree autorizado para formular la ley de que los distintos componentes alimenticios tienen una acción específica excitante sobre el metabolismo en el sentido de aumentar ciertas fases de desintegración de los materiales correspondientes, y precisamente en el sentido de una movilización de los correspondientes materiales de reserva; así, los azúcares movilizan el glucógeno, los aminoácidos movilizan proteínas y facilitan su escisión: estos *excesos*, que aparecen de vez en cuando en el metabolismo intermedio, deberían servir a su vez para excitar los mecanismos contrarreguladores, favoreciendo, por lo tanto, las reconstrucciones necesarias, para las cuales los productos catabólicos son un estímulo potente.

Pero hay órganos que tienen una importancia principal en este complicado mecanismo regulador, y esto por dos razones. Puede tratarse de órganos que centralizan fases metabólicas numerosas e importantes, verdaderos laboratorios químicos centrales del organismo, que toman parte notable en los procesos reguladores y compensadores, en condiciones normales y patológicas. Pero también existen órganos que fabrican *substancias reguladoras especiales de destino electivo* capaces de influenciar ciertos órganos y determinados actos metabólicos, y que también actúan como laboratorios químicos, aunque no generales, sino especializados en la producción de ciertos mensajeros químicos que se vierten en la sangre y que son llevados con ella a ciertos

(1) *Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmacol.*, vol. LXXVI.
(2) *Zeitschr. f. klin. Med.*, vol. XCI.
(3) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXXI, fasc. 3.°-6.°
(4) *Id.*, vol. XXVI, fasc. 1.° y 2.°
(5) *Zeitschr. f. klin. Med.*, vol. XCV.
(6) *Klin. Woch.*, 1923, n.° 30.

substratos receptores y eficientes: entonces se habla de *órganos de secreción interna o endocrinos*, y los reguladores citados se llaman *increciones* u *hormonas*. Estos productos pueden colocarse quizá, como reguladores específicos endógenos, cerca de las vitaminas, que son reguladores específicos exógenos.

En cuanto a los que habíamos llamado laboratorios químicos centrales, citaremos principalmente el *hígado;* si quisiéramos resumir todas las funciones químicas del hígado, que tiene verdaderamente una situación dominante en el metabolismo intermedio, deberíamos repetir muchas de las cosas ya dichas precedentemente. Recordemos solamente que el hígado tiene una función *excretora* porque elimina varias substancias en forma de componentes biliares, algunas de las cuales, sin embargo, son utilizadas por el organismo (como los ácidos biliares) para la digestión de los alimentos y, por lo tanto, confieren a la bilis la significación y la dignidad de una *secreción*. Por lo demás, la diferencia entre secreción y excreción es en parte artificial; basta decir que hasta ciertas increciones de función bien especializada son productos catabólicos verdaderos y propios de los órganos productores, como, por ejemplo, las que tienen el carácter de aminas proteinógenas. Pero el hígado posee sobre todo funciones *transformadoras*, ya que toma materiales de la sangre, los modifica y frecuentemente los restituye a la misma sangre para ulteriores empleos, a veces de eliminación urinaria (acoplamiento, previa oxidación, de compuestos fenólicos o indólicos con el ácido sulfúrico o glucurónico, con fines desintoxicantes), a veces de utilización más perfecta (transformación de las grasas en hidratos de carbono). Sobre ciertos materiales el hígado efectúa escisiones especiales, y ciertos derivados resultantes son preparados para la eliminación, precedida eventualmente de síntesis defensivas; así, para la mayoría de los aminoácidos el hígado parece ser el órgano central de desaminación; con los residuos amínicos fabrica luego urea (por adición de CO_2) y con las cadenas grasas respectivas fabrica cuerpos cetónicos o bien hidratos de carbono. Ya hemos hablado de la importante función de depósito que el hígado tiene para los hidratos de carbono (en forma de glucógeno), para las grasas y para las proteínas. En Medicina es muy apreciada la función antitóxica del hígado, y la patología experimental ha individualizado perfectamente el síndrome de hipo o anhepatía, que puede obtenerse con la ligadura de los vasos, fístula de ECK, etc. Hace muchos años que MYA fué uno de los primeros clínicos que llamaron la atención acerca de la importancia de la función antitóxica del hígado, hasta como sostén y compensación de la función renal. En la página 631 hemos descrito el cuadro de la necrosis hepática masiva, que es una verdadera intoxicación por los productos de escisión proteica, abundantes por la masa del órgano en autolisis intravital y por la riqueza en fermentos del mismo órgano (véase FISCHLER, allí citado).

El hígado tiene también gran importancia para el metabolismo del hierro: atrae y fija el Fe de la alimentación ya esté en forma orgánica,

ya inorgánica. Además, el hígado desempeña un gran papel en la destrucción de la hemoglobina : con la porción no ferruginosa de la molécula del hemocromógeno el hígado fabrica o contribuye a fabricar el pigmento biliar y sus distintos derivados (urobilina, estercobilina) ; en cambio, el Fe es almacenado y, a diferencia del Fe de origen alimenticio, es principalmente en el *bazo* donde se verifica la acumulación del Fe que proviene de la hemoglobina. El hígado y el bazo trabajan, pues, con una conexión aun no del todo clara, en la desintegración de la hemoglobina y en el metabolismo del Fe ; de todos modos, parece que este Fe endógeno es economizado con gran cuidado por el organismo, que se sirve de él para la fabricación de nuevos hematíes ; efectivamente, el metabolismo exógeno del Fe es bastante limitado. Parece que los leucocitos tienen importancia en el transporte del Fe de un depósito al otro (hígado-bazo) y de éstos a los centros formadores de hematíes en la médula ósea.

El bazo no termina su importancia metabólica con la parte que ciertamente tiene en el metabolismo del Fe ; en cierto modo debe retardar los procesos de oxidación. STREULI (1) y otros discípulos de ASHER han demostrado que los animales esplenectomizados son más sensibles que los animales normales a las deficiencias del O_2 y, por ejemplo, mueren primero bajo la campana neumática, como si necesitasen más O_2, al contrario de los tiroidectomizados, que mueren después que los normales. Por otra parte, EPPINGER (2) ha encontrado que después de la esplenectomía en el hombre hay una mayor tendencia a la fijación de nitrógeno, pudiendo convertirse en positivo un balance que antes era negativo : los procesos de desintegración debían, pues, ser excitados por el bazo, que, sin embargo, en los casos de EPPINGER estaba en condiciones patológicas. Quizá aquí se entra en la función hemocaterética del bazo : en este órgano (según demostraron BANTI, por lo que se refiere a la anatomo-patología, y BOTTAZZI, por lo que atañe a las cuestiones químico-fisiológicas, mucho antes que EPPINGER) los hematíes sufren una disminución de resistencia (también de resistencia *osmótica)* y adquieren las condiciones óptimas para ser destruídos ; parece (EPPINGER) que es precisamente en la pulpa y no en los capilares esplénicos donde se verifica esta especie de ejecución de los hematíes destinados a la muerte. Esta función puede estar exaltada, y se presentan varias formas de *ictericia hemolítica* y las llamadas *anemias esplénicas, hemolíticas*, etc. ; otras veces está deprimida, y aparece el cuadro de la poliglobulia; pero estas nociones salen del campo propiamente bioquímico. Citemos solamente el hecho de que después de la esplenectomía disminuye la urobilina contenida en las heces y en la orina, como signo de la destrucción hemoglobínica disminuída. Corresponde a BANTI y no a EPPINGER el mérito de haber introducido la esplenectomía como medio terapéutico eficaz de las anemias hemolíticas y esplénicas.

(1) *Bioch. Zeitschr.*, vol. LXXXVII.
(2) *Hepatolienale Erkrank.*, Springer, Berlín, 1920.

El bazo, además de intervenir en el metabolismo del Fe, quizá con el proteico en general y seguramente con el hemoglobínico, tiene relación con el metabolismo de los lipoides : el bazo puede almacenar abundantemente los lipoides circulantes, y sus células retículo-endoteliales (como también el tejido retículo-endotelial extraesplénico) se infiltran de ésteres colesterínicos si hay hipercolesterinemia de origen alimenticio, como se obtiene, por ejemplo, con la administración oral de colesterina al conejo. En la *esplenomegalia* tipo GAUCHER hay una gran infiltración del bazo por los lipoides, de los cuales se ignora el origen y significado. Finalmente, el bazo puede, quizá por vía hormónica, regular el peristaltismo intestinal y hasta tal vez influir en la actividad y en la formación de ciertos fermentos digestivos.

Según un orden de ideas, desarrolladas principalmente por FICHERA y sus discípulos, el bazo especialmente y los órganos hematopoyéticos en general serían aparatos moderadores, por medio de sus productos específicos, de las proliferaciones celulares en el organismo; la reducción de la actividad *oncolítica* de estos órganos sería importante para la etiología de los tumores malignos.

Con esto se pasa al campo de las verdaderas *secreciones internas*, al campo específico de la correlación humoral.

Esta engrana a su vez con la correlación nerviosa y, efectivamente, hoy se admite que las hormonas tienen con frecuencia su punto de acción en una u otra sección del sistema nervioso vegetativo *(hormonas simpáticotónicas* y *hormonas parasimpáticotónicas)*. Pero las experiencias de LOEWY hacen pensar que hasta las mismas acciones nerviosas, por lo menos por lo que atañe a la esfera de la inervación vegetativa, se desarrollan por intermedio de verdaderas hormonas: LOEWY (1) ha observado que si se hace latir un corazón de rana sin renovar su contenido y se estimula el vago de manera que se obtenga la clásica acción frenadora y diastólica, el contenido de dicho corazón llevado a otro corazón reproduce en éste la acción que se logra estimulando el vago ; por otra parte, el contenido de un corazón cuya inervación simpática se ha estimulado transporta a otro corazón la acción correspondiente, aceleradora y sistólica ; por lo tanto — piensa LOEWY —, el estímulo de uno u otro nervio produce substancias específicas, diversas en los dos casos, y el corazón siente el estímulo gracias a la formación de estas substancias, verdaderas mediadoras de la acción nerviosa.

Debemos remitir a los tratados especiales y a los de Fisiología y Patología general para lo referente a la doctrina de las secreciones internas.

Algunas de las principales hormonas han sido definidas químicamente : la adrenalina (pág. 202), la tiroxina de KENDALL (pág. 210), la hormona de la *pars intermedia* de la hipófisis, de acción hemodinámica, galactogoga, útero-excitadora y, por lo tanto, ecbólica (quizá

(1) *Pflüger's Arch.*, vol. CLXXXIX-CXCIII.

es un cuerpo o varios cuerpos del tipo de los polipéptidos con un núcleo imidazólico, véase pág. 197). Poco se sabe acerca de la composición y naturaleza de la insulina (pág. 577) y de las hormonas de la masa glandular de la prehipófisis (se ha llamado *tetelina* una substancia excitante del crecimiento, extraída de este órgano), las hormonas de las glándulas sexuales (1) y las de la corteza de la suprarrenal.

También conocemos, aunque solamente por su función biológica, las hormonas paratiroideas, y sabemos algo, aunque mucho menos, sobre las tímicas, epifisarias, etc. Ya se ha dicho que muchas funciones de las llamadas *secretinas* gástricas y pancreáticas son parecidas a las de ciertas bases, como la β-imidazoletilamina y la colina, existentes en abundancia en muchos tejidos y en los extractos correspondientes.

Para muchas influencias sobre el metabolismo (típicamente sobre el de los hidratos de carbono, quizá también sobre el de las grasas) hay una sinergia del tiroides con la hipófisis y las suprarrenales (parte medular o sistema cromafino) y un antagonismo entre esta tríada y el páncreas. Las glándulas sexuales parecen colaborar en el metabolismo de acuerdo con la tríada citada, mientras que las paratiroides se revelan más en acuerdo con la función pancreática.

Gley cree poder distinguir con el nombre de *harmozonas* las substancias desconocidas tiroideas, genitales, interrenales (corticosuprarrenales), hipofisarias, epifisarias, etc., que regulan el desarrollo de tantos aparatos y, por lo tanto, modelan y dirigen el desarrollo corpóreo; pero no sabemos nada, desde el punto de vista químico, sobre estas hormonas *morfogénicas*. Se atribuyen funciones antitóxicas a los lipoides almacenados o producidos en la corteza suprarrenal.

Merecen algunas palabras las hormonas tiroideas y paratiroideas y las del tejido cromafino (adrenalina). No es cierto que la tiroxina

(1) Según experimentos de Doisy, Ralls, Allen y Johnston, (*Journ. of biol. Chem.*, vol. LXI, n.° 3, 1924), un extracto *alcohólico* del *liquor folliculi* del ovario tendría una acción excitante del celo (ratas, conejos): se trataría, pues, de una verdadera hormona ovárica, de naturaleza probablemente lipoide.

Débese a Loudek y Aschheim (1) y a Laqueur (2) la extracción y purificación relativa de la hormona ovárica, que ha resultado ser soluble en agua. Ha sido llamada *foliculina* por Laqueur y Menformon. Puede estudiarse su acción por medio del método introducido por los autores americanos (Allen y Doisy), que consiste en estudiar la aparición de las modificaciones cíclicas en la vagina del ratón hembra castrado: mientras que las preparaciones de secreción vaginal presentan en ésta una cierta proporción de leucocitos y moco, bajo la influencia de la hormona inyectada por cualquier vía se observa la aparición de numerosos epitelios y especialmente placas queratinizadas y anucleadas (3). Estas hormonas sexuales femeninas relativamente purificadas han sido ya ensayadas en clínica. Según Loudek y Aschheim (4), el lóbulo hipofisario anterior sería el productor de una hormona que excitaría fisiológicamente la función endocrina ovárica: la hipófisis sería el *motor* de la función genital a través de la influencia de la secreción de la hormona ovárica.

(1) *Klin. Woch.*, 1926-27.
(2) *Deuts. med. Woch.*, 1926, n.° 1; 1927, n.° 21; *Klin. Woch.*, 1927, n.° 9.
(3) Schollen, Loudek y Aschheim *Klin. Woch.*, 1926, n.° 10 y 22.
(4) *Arch. f. Gynaek.* Vol. CXXX. 1927.

de Kendall comprenda todas las hormonas tiroideas: así, la feniletilamina y la oxifeniletilamina o tiramina, especialmente si son yodadas, tienen, como la substancia tiroidea, la característica acción aceleradora de la metamorfosis del renacuajo, como ha demostrado Abelin (1). Por otra parte, en la tiroxina no hay más que $^1/_4$ o $^1/_5$ de todo el yodo tiroideo. Cierto es que las hormonas tiroideas deben ser preferentemente substancias yodadas, que el tiroides es el órgano central del metabolismo del yodo, como el hígado y el bazo lo son del del hierro. Un *déficit* en la aportación de yodo con los alimentos representa seguramente una causa de insuficiencia tiroidea, especialmente durante el desarrollo.

Además, el tiroides es el órgano endocrino cuya acción excitante sobre todo el metabolismo está más claramente demostrada: es el que ejerce más influencia sobre las oxidaciones intraorgánicas y quizá sobre la termogénesis que de ellas deriva, de donde la denominación de «fuelle» o «ventilador del organismo» que se le ha aplicado. En el animal tiroidectomizado languidecen las oxidaciones, tanto que soporta mejor que el normal el *déficit* de O_2 en la atmósfera y muere más tardíamente bajo la campana neumática, como ha demostrado la escuela de Asher. Se debe principalmente a autores italianos el haber puesto en evidencia las relaciones entre el tiroides, la función renal y el metabolismo hídrico: así, Luciani hace ya muchos años hizo resaltar las lesiones renales en la caquexia estrumipriva. Lo Monaco y Dutto (2) supusieron, fundándose en buenos datos experimentales, que este síndrome podía atribuirse también a la retención de productos nitrogenados, y sobre todo Coronedi (3) ha estudiado eficazmente la función de verdadero *diurético fisiológico* de la secreción interna tiroidea, como mucho después ha confirmado Eppinger (pág. 497). No hay casi ningún acto del metabolismo en que esta glándula endocrina no influya (para los hidratos de carbono y para las grasas, véase los capítulos correspondientes), de la misma manera que no hay aparato cuyo desarrollo no acelere más o menos, especialmente en el sentido de la diferenciación de las partes o evolución morfológica (mientras que el timo, como se desprende de las conocidas experiencias sobre el renacuajo, acelera más bien el desarrollo de masa).

En cuanto a las paratiroides, como hace poco hemos dicho, no sabemos casi nada acerca de la verdadera naturaleza química de las hormonas que contienen; pero, sin embargo, podemos indicar algo acerca de su importancia en el metabolismo general. En varios puntos (véase especialmente Sección II, Cap. VI, *c*) hemos hablado de la tetania paratireopriva y hemos visto como en esta afección se admite por algunos una alcalosis, relacionada con una *disionia* compleja (disminución de Ca-iones, aumento de K- y fosfato-iones en la san-

(1) *Bioch. Zeitschr.*, vol. CII.
(2) *Atti R. Accad. dei Lincei*, 1895.
(3) *Studi intorno alla fisiologia della ghiandola tiroide*, Gallizzi, Sassari, 1907. — *Bollettino Soc. med.-chir. di Bologna*, año LXXX, serie 8.ª, vol. IX, 1909.

gre), mientras que otros se orientan más hacia una intoxicación por bases del tipo de la guanidina, cuya acción tetanígena está demostrada experimentalmente, y algunos creen que la guanidina actúa como veneno tetanígeno porque impide al Ca fijarse en los aparatos neuromusculares y ejercer su conocida acción sedante sobre éstos; por lo tanto, los fenómenos calciprivos y los fenómenos guanidínicos están unidos por una íntima conexión. Las paratiroides, pues, son consideradas actualmente desde estos dos puntos de vista: como órganos inhibidores de las pérdidas de sales de Ca, que mantienen, por lo tanto, la concentración normal de Ca-iones en el plasma, o como órganos desintoxicantes de la guanidina. La primera función está confirmada por las extensas investigaciones de SALVESEN (1), según las cuales, después de la paratiroidectomía en el perro, desciende la cantidad de calcio de la sangre, se eleva la de fosfatos y la tetania puede curarse con inyecciones repetidas de cloruro de Ca, aunque no se observaría, según este autor, la alcalosis afirmada por FREUDENBERG y GYÖRGY y otros citados en la página 477. Las paratiroides inhibirían las pérdidas de Ca por el intestino, el principal aparato eliminador, y la dieta láctea tendría un gran poder curativo de la tetania paratireopriva en virtud de su gran riqueza en calcio. En los perros operados estaría disminuída la tolerancia para los hidratos de carbono, por una relación entre el metabolismo de éstos y el metabolismo calcio-fosforado. Sin embargo, todavía no vemos claras las relaciones entre estos varios factores, de los cuales los más seguros son la alteración iónico-salina, con reducción de los calcio-iones de la sangre en la tetania, y, por otra parte, la innegable semejanza del envenenamiento por la guanidina en varios animales, con el cuadro de la tetania paratireopriva.

Débense a SPADOLINI y a algunos colaboradores (2) una serie de investigaciones que aclaran bastante bien las relaciones entre paratiroides y función gastro-intestinal. SPADOLINI ha estudiado los efectos de la extirpación de los nervios mesentéricos, encontrando graves lesiones en la mucosa intestinal, con necrosis total del epitelio de las vellosidades, lesiones del plexo celíaco, lesiones hepáticas y pancreáticas.

SPADOLINI hace observar la analogía de estas alteraciones con las que se presentan en ciertas avitaminosis y pone en evidencia que a la intervención citada sigue un cuadro toxémico, con graves manifestaciones nerviosas: paresia, espasmos, temblor, convulsiones, hasta una verdadera tetania que recuerda la paratireopriva. Estas manifestaciones están en relación con la penetración de bases tóxicas en la luz intestinal; en estas condiciones aparece incluso una bacteriemia. En el perro y en el gato hay también hipocalcemia, después de la resección

(1) *Acta medica scandinavica*, suplem. VI, 1923.
(2) *Arch. di fisiol.* Vol. XXII-XXIII-XXIV, 1924-26; VII *Congr. Soc. ital. di neurol.* Abril, 1926.

de los nervios mesentéricos. SPADOLINI pone en evidencia las grandes analogías entre este cuadro experimental y los efectos de la paratiroidectomía; se supone que las paratiroides regulan el trofismo nervioso del tubo digestivo, por lo cual su extirpación produce graves lesiones necróticas que permiten la absorción de grandes cantidades de substancias tóxicas (aminas) en la luz intestinal. Mientras el epitelio intestinal normal fija o suprime la acción tóxica de las aminas que se forman en la luz intestinal, sus alteraciones graves, por *lesión directa de los nervios* o por *paratiroidectomía* produce un cuadro toxémico grave.

Esta doctrina italiana merece una atenta consideración.

En lo referente al aislamiento de la hormona paratiroidea, en estos últimos años se han hecho grandes progresos gracias a los trabajos de CALLIP (1), COLLIP, CLARK y SCOTT (2) con varias comprobaciones (3). La substancia obtenida y dosificada por COLLIP tiene una enérgica acción sobre el contenido en calcio de la sangre, que puede ser doblado y triplicado (hipercalcemia).

El mecanismo de acción no es claro: parece que el calcio, que aumenta en la sangre, es sustraído a los depósitos normales de los huesos.

Acerca de la química de la adrenalina, ya hemos dicho algo en la página 202. Recientemente, GLEY (4) y TRENDELENBURG (5) han puesto en duda la naturaleza de verdadera hormona de la adrenalina, por varias consideraciones, sobre todo por la escasez de la adrenalinemia fisiológica que parece incompatible con una acción duradera sobre el tono cardiovascular y sobre todas las terminaciones del simpático. En realidad, el reconocimiento de la adrenalina en la sangre es una de las cosas más difíciles: no se puede recurrir a medios químicos, sino solamente a métodos biológicos, que consisten esencialmente en demostrar una acción vasoconstrictora, así, por ejemplo, sobre la rana preparada por el método de TRENDELENBURG. Pero actualmente se sabe que el suero tiene de por sí, independientemente de la presencia de adrenalina, propiedades vasoconstrictoras (6) y que el mismo plasma citratado las adquiere rápidamente fuera del cuerpo (7), por modificaciones físicas a expensas de los coloides, según unos, o por destrucción de células o productos celulares, especialmente de las plaquetas, con la consiguiente formación de substancias vasoconstrictoras, según otros. FREUND ha estudiado minuciosamente la acción que podríamos llamar farmacológica del suero y del plasma hechos incoagulables, sobre el corazón y los vasos (generalmente de rana), y ha encontrado una acción inmediata debida a productos de desintegración de las plaquetas, y otra más tardía, vasoconstrictora y cardio-

(1) *Journ. of. biol. Chem.*, vol. LXIII.
(2) *Journ. of. biol. Chem.*, vol. LXIII y LXVI.
(3) GREENWALD y colab. *Journ. of. biol. Chem.*, vol. LXVI-LXVII, 1926.
(4) *Die Lehre con d. inn. Sekretion*, Bircher, Berna, 1920.
(5) *Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol.*, vol. LXXIX, 1916.
(6) O'CONNOR, *Id*, vol. LXVII, 1912.
(7) TRENDELENBURG, loc. cit. anteriormente.

cinética, debida a substancias extraíbles por el alcohol (1). Por lo tanto, para que una acción vasoconstrictora demostrada en la sangre pueda atribuirse al contenido adrenalínico, es necesario excluir esta acción de los agentes vasoconstrictores, aun mal conocidos, pero de todos modos distintos de la adrenalina. Todas las investigaciones de los clínicos acerca de la hiperadrenalinemia en varios estados morbosos (diabetes, Basedow, hipertensión, etc.) deben ser revisadas teniendo presentes estos recientes descubrimientos. Así, HÜLSE (2) considera como acción verdaderamente adrenalínica aquella acción vasoconstrictora de la sangre que puede ser inhibida por la atropina ; según este criterio, llega a la conclusión de que hay adrenalina incluso en la sangre arterial humana, pero que se encuentra en ella en dosis mínimas, correspondientes a una concentración de menos de 1 : 1,5 mil millonésimas, ineficaz sobre los vasos de rana disecados, pero, con toda probabilidad, eficaz sobre los vasos del organismo vivo y que, por lo tanto, es una verdadera hormona. En varias formas de hipertensión, sin embargo, no podría demostrarse un aumento de adrenalina en la sangre arterial. Un método, quizá destinado a resolver varias de estas cuestiones y que parece permitir el reconocimiento seguro de la adrenalina, es el de la ultrafiltración, aplicado a este caso por C. FOA (3): en el ultrafiltrado del suero, faltan efectivamente los constituyentes coloidales y es más fácilmente demostrable la acción farmacológica de varias substancias, como la adrenalina y otras hormonas de tipo cristaloide. Nótese que, según STORM VAN LEEUWEN, en la sangre se encuentran substancias que favorecen la acción adrenalínica (4); pero, como observa HÜLSE, también deben existir substancias antagonistas, como la colina, la histamina, etc., que son productos metabólicos de distintos órganos. Remitiéndonos a los tratados especiales para lo referente a la acción glucosúrica (ya citada en el cap. III), la aceleradora de las escisiones proteicas, la termogenética y la tóxica sobre los vasos (mesoarteritis en el conejo por la adrenalina), queremos citar la demostración que recientemente ha hecho VALLMER (5), basándose, sin embargo, en datos precedentes, de que la acción de la adrenalina es *bifásica*, es decir, que en un primer tiempo modifica el metabolismo en sentido acidótico y aumenta la riqueza en Ca de la sangre (es en este caso que se obtiene la acción simpático-tónica y glucosúrica por lo que se ha dicho en la Sección II, capítulo VI, *c*), mientras que en un segundo tiempo, por el contrario, lo modifica en sentido alcalótico, con un aumento de los fosfatos y del potasio en la sangre.

(1) *Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol.*, volúmenes LXXXVI, LXXXVIII, XCI ; y con GOTTLIEB, *München. med. Woch.*, 1921, pág. 383.
(2) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXX, 1922.
(3) *Atti Congr. Soc. ital. progr. Scienze*, Nápoles, 1924.
(4) *Arch. f. exper. Pathol. und Pharmakol.*, vol. LXXXVIII.
(5) *Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol.*, vol. XCVI, n.° 6, 1923.

CAPÍTULO IX

Las leyes del metabolismo (especialmente del energético) en el organismo normal y patológico

a) MÉTODOS DE ESTUDIO.

En los capítulos anteriores nos hemos ocupado principalmente del metabolismo de cada uno de los materiales constitutivos de los alimentos y del organismo ; ahora debemos ver cómo se comporta el metabolismo orgánico general, orientando principalmente nuestro estudio hacia los *cambios de energía*, y completando en parte lo que, más elementalmente y por razones didácticas, hemos indicado ya desde la sección primera a propósito de la alimentación. Sin embargo, muchas de las cuestiones referentes al metabolismo energético se encuentran en los tratados de Fisiología, y su investigación metódica no ha llegado todavía a ser patrimonio corriente del médico, por lo cual seremos muy breves al exponerlas.

El metabolismo energético total se puede valorar por varios métodos : las *entradas* se deducen de las nociones sobre el valor energético de los alimentos calculado en calorías, como ya hemos dicho en la sección primera : dijimos allí que no se pueden introducir directamente en el cálculo del aporte energético los valores que, para cada alimento o constituyente alimenticio, se deducen de su combustión en la bomba calorimétrica, sino que es necesario hacer algunas correcciones : 1.°, por las pérdidas por las heces, y 2.°, porque una fracción de ciertos materiales (proteínas) es eliminada del cuerpo, sobre todo por la orina, sin que haya sido completamente elaborada, por lo cual se pierde en forma de productos metabólicos terminales (urea y otros cuerpos nitrogenados) que aun contienen parte de energía que no se ha utilizado. Repitamos que se emplean como valores de combustión: 4,1 calorías grandes por cada gramo de hidratos de carbono y de proteínas (para las cuales esta cifra lleva ya la corrección citada) y 9,3 calorías grandes por cada gramo de grasa ; en los balances, debe hacerse luego la corrección primeramente citada (pérdidas fecales) que, si se quiere operar con exactitud, se calcula fundándose en la cantidad de proteínas, grasas e hidratos de carbono de las heces o, en determi-

naciones menos exactas, se calcula en función de valores medios aproximados. Las *salidas* se evalúan por dos clases de métodos: los llamados *calorimétricos directos* y los llamados *calorimétricos indirectos*. E primer grupo de métodos, que arranca de los descubrimientos fundamentales de LAVOISIER sobre el origen del calor animal, consiste en el empleo de verdaderos calorímetros, dentro de los cuales sea posible encerrar al sujeto (hombre o animal) durante un tiempo más o menos largo, de manera que se recojan y se midan exactamente todas las salidas energéticas en forma de calor (a las que se añaden eventualmente las salidas en forma de trabajo mecánico, si éste se produce). Los trabajos fundamentales de RUBNER y de CHAUVEAU han sido hechos con este método, que luego ha encontrado aplicación aún más perfecta en América gracias a ATWATER y BENEDICT, los cuales han construído un calorímetro grande y complicado, dentro del cual puede vivir cómodamente un hombre y hasta trabajar durante varios días seguidos. En rigor, el calorímetro de ATWATER y BENEDICT es al mismo tiempo un aparato para el estudio de los cambios respiratorios, porque mide el O_2 consumido y el CO_2 producido por el sujeto (1).

El otro grupo de métodos es conocido con el nombre de *calorimetría indirecta*, y se divide en dos subgrupos. En el uno, empleado ya en las clásicas investigaciones de VOIT y PETTENKOFER, se determina en un experimento de 24 horas la cantidad de CO_2 eliminado por el aparato respiratorio y la cantidad de carbono eliminado por la orina: así se obtiene aproximadamente la cantidad de carbono quemado y de éste se sustrae el correspondiente a las proteínas (cuya cantidad metabolizada se deduce del N urinario). El resto corresponde a los hidratos de carbono y a las grasas, y como se supone que los primeros son quemados *antes* que las segundas, se calcula los hidratos de carbono que han sido absorbidos (teniendo en cuenta los que formaban parte de la dieta y las pérdidas fecales) y el C correspondiente se sustrae también de la resta anterior; el carbono que entonces queda, corresponde a las grasas. Sabiendo qué cantidad de cada grupo de substancias ha sido metabolizada, se puede deducir del valor de combustión correspondiente cuántas calorías han sido producidas. En este subgrupo de métodos de calorimetría indirecta se viene, por lo tanto, en conocimiento del metabolismo energético por el cálculo del metabolismo material; pero también en este caso son necesarios largos períodos de experimentación, muchos análisis químicos y condiciones no fácilmente adaptables al estudio de los problemas clínicos.

El segundo subgrupo de métodos de calorimetría indirecta es mucho más sencillo y consiste esencialmente en el estudio de los *cambios respiratorios* por medio del aparato de ZUNTZ-GEPPERT o sus modificaciones sucesivas, durante *breves períodos de tiempo;* este método, que fué extensamente usado por la escuela de ZUNTZ y después por otros muchos autores, actualmente ha entrado en la clínica por ser sumamente útil y cómodo. El conocimiento exacto del O_2 consumido y del CO_2 producido por un organismo puede, en efecto, hacernos apreciar el conjunto del metabolismo energético: así como nosotros definimos el calor de combustión de una substancia orgánica (alimento, substancia corporal) como la cantidad de calor que se desarrolla por la oxidación completa (en el organismo o en la bomba calorimétrica) de un gramo de dicha substancia, entendemos por *valor calorífico del oxígeno* respecto a cada substancia, el número de calorías grandes que es producido por 1 litro de oxígeno que las quema.

(1) Se encuentra una descripción elemental en MATHEWS *(Physiol. Chem.)* y en los modernos tratados de Fisiología. Los trabajos de los autores americanos están en su mayoría en *U. S. Dept. Agricult. O. E. S. Bullet.*, y en *Carnegie Institution Publications*, Washington, algunos se hallan también en diversos volúmenes anuales del *Journ. of biolog. Chem.*

Si imaginamos, por ejemplo, que el organismo quema solamente grasa, como sabemos que 1 gr. de grasa necesita para ser quemado 2,0192 litros de oxígeno y desarrolla 9,3 calorías, podemos fácilmente calcular cuántas calorías corresponden a la combustión de la grasa quemada por cada litro de oxígeno, por medio de la siguiente proporción: $2{,}0192 : 9{,}3 = 1 : x$, por lo cual:

$$x = \frac{9{,}3}{2{,}0192} = 4{,}605.$$

Se puede decir que, si el organismo vive a expensas solamente de grasas (por lo tanto, con un cociente respiratorio alrededor de 0,707), el valor calorífico del O_2 es de 4,605, o sea que cada litro de este gas que se habrá consumido corresponderá a la producción de 4,605 calorías grandes.

Si suponemos que el organismo quema solamente almidón (C. R.= 1), ya que 1 gr. de éste desarrolla 4,18 cal. y exige para ser totalmente quemado 0,8288 litros de oxígeno, podemos repetir el mismo razonamiento y deducir que el valor calorífico del O_2 es en este caso:

$$\frac{4{,}18}{0{,}8288} = 5{,}043.$$

Finalmente, si quemamos proteínas, por un razonamiento y un cálculo iguales, se llega a un valor calorífico que se aproxima al obtenido para las grasas, aunque un poco inferior, y evaluado por varios autores alrededor de 4,6.

Así, según MAGNUS-LEVY, se tiene para las distintas clases de materiales orgánicos los siguientes valores:

proteínas 4,600
grasas 4,686
almidón (la mayoría de los hidratos de carbono son ingeridos en esta forma) 5,047.

Análogas consideraciones podrían repetirse fundándose en el CO_2 producido para averiguar a cuántas calorías corresponde un litro de CO_2 eliminado, según que se quemen en el cuerpo cada una de las tres clases de materiales (valor calorífico del CO_2).

Con estos datos, fijando el oxígeno consumido durante breve tiempo y averiguando el C. R. por medio de una determinación simultánea del CO_2 producido, es posible saber, sin necesidad de recurrir al calorímetro, cuántas calorías se han producido y también qué clase de materiales ha utilizado el organismo para sus necesidades, si ha consumido más grasas o hidratos de carbono y, si se evalúa al mismo tiempo el N urinario, determinar exactamente las cifras de proteínas, grasas e hidratos de carbono destruídos. Generalmente se refiere el cambio de gases a la cantidad por minuto; sabiendo el N urinario de las 24 horas o de las 12 horas puede calcularse el consumo de N por minuto y, por lo tanto (multiplicando N por 6,25), la destrucción de proteínas en esta unidad de tiempo. Es, pues, fácil averiguar, por el consumo de O_2 en un minuto, cuánto debe atribuirse a la combustión de las proteínas, y restando éste del consumo total, se determina qué cantidad es debida a la combustión de las grasas e hidratos de carbono. Entonces, por un cálculo sencillo se determina la parte que cada uno de estos dos tipos de substancias orgánicas ha tomado en la combustión, teniendo presente que el C. R. es de 0,707 si el O_2 se ha distribuído entre grasas e hidratos de carbono en la proporción 100 : 1, y es de 1 si el O_2 se ha distribuído entre grasas e hidratos de carbono en la proporción 1 : 100.

Pero comúnmente se simplifica aún más el procedimiento: muchas de estas determinaciones se hacen por el fisiólogo y por el médico en individuos en reposo y en ayunas desde varias horas antes, en cuyas condiciones se sabe que el consumo de proteínas es constante e implica cerca del 15 % del metabolismo energético total. En tal caso, el 85 % de las salidas energéticas se han hecho a expensas de la grasa y de los hidratos de carbono, y se puede calcular el valor calorífico del O_2 como comprendido entre 4,67 (cuando el citado 85 % está constituído solamente por grasa) y 4,98 (si dicho 85 % está integrado únicamente por hidratos de carbono, o sea para la combustión de 85 partes de hidratos de carbono y 15 de proteínas). Como estos dos valores no son muy diferentes, y en condiciones normales se queman cadenas carbonosas de grasas y de hidratos de carbono, se puede tomar un *valor calorífico medio*, fijado por MAGNUS-LEVY en 4,83, y que KROGH (para individuos sometidos desde 2 días antes a una dieta pobre en grasas y proteínas y a ayuno completo desde 12-14 horas antes de la operación) redondea a 4,9. Entonces no es necesario dosificar el N urinario ni el C. R., y, por lo tanto, no hay que medir el CO_2 emitido; todo se reduce a averiguar cuántos litros de oxígeno consume el sujeto que se examina durante un tiempo dado, y multiplicar esta cantidad *en litros* por 4,83-4,9, obteniendo así las calorías grandes producidas por el sujeto en dicho período de tiempo. Si se mide el oxígeno en centímetros cúbicos (breve período de tiempo), multiplicando por 4,9 se obtienen las calorías *pequeñas* producidas. Es fácil luego hacer el cálculo para 24 horas. Ciertamente la calorimetría indirecta, con dosificación del N urinario y determinación del C. R. es más precisa: GRAFE (1), que citaremos frecuentemente, da como valores adoptados los siguientes: para cada gramo de N urinario se calculan 24,98 cal. producidas por la combustión de las proteínas; el valor calorífico (O_2-Cal.) es igual a 4,795 para C. R. = 0,713, e igual a 5,058 para C. R. = 1.

Pero se pueden hacer numerosas y útiles investigaciones clínicas con aparatos sencillos que permiten la rápida determinación solamente del O_2 consumido: en América hay varios tipos de estos aparatos, con los cuales en pocos minutos se determina el metabolismo basal de los individuos en reposo y en ayunas (así se hace, por ejemplo, en la clínica MAYO en todos los enfermos y operados de Basedow, bocio, etc.) y se obtienen datos útiles para el conocimiento del metabolismo.

En Alemania, y actualmente también entre nosotros, es muy usado el aparato de KROGH, el conocido fisiólogo danés, que considera como una ventaja el desentenderse de la eliminación de CO_2, la cual varía según el grado de ventilación pulmonar, el equilibrio ácido-básico de la sangre, etc., y, por lo tanto, no siempre — especialmente en las observaciones de breve duración — corresponde a la formación de CO_2 en los tejidos. KROGH (2) aconseja tener al paciente a régimen rico en hidratos de carbono, con sólo 50 gr. de carne y un poco de mantequilla el día, y hacer el experimento 12-14 horas después de la última comida.

El aparato de KROGH no es más que un *espirómetro;* una campana ligera, sumergida en el agua contenida en la doble pared de un recipiente, está en relación con un estilete que inscribe sobre un cilindro registrador. La campana y el recipiente forman una cavidad que se llena con 5 litros de oxígeno; en el interior, y sobre un soporte, hay una mezcla de cal sodada, y la cavidad está en comunicación con la boca del paciente por medio de un tubo que se aplica perfectamente a ella, que luego se bifurca y lleva dos válvulas (para la inspiración y la expiración): la cavidad espirométrica, el tubo y el aparato respiratorio forman un sistema cerrado. Si el paciente respira, a cada inspiración la campana desciende y a cada expiración vuelve a levantarse, e inscribe estos movimientos sobre el cilindro (en el cual debe inscribirse también el tiempo). Pero a cada acto respiratorio sucesivo la campana no vuelve hasta la altura precedente y, por lo tanto, las puntas expiratorias del trazado van siempre bajando a medida que el oxígeno es consumido por el sujeto, mientras que el CO_2 es absorbido por la cal sodada, y el agua se deposita en el fondo del recipiente. En otros términos, desapareciendo el O_2 y siendo absorbido el CO_2 correspon-

(1) *Pathol. Physiol. d. Gesamtstoff- und Kraftwechsels*, Bergman, 1923.
(2) *Respirat. exchange of animals a. man*, Longman, Londres 1916.

diente, el volumen de la mezcla gaseosa disminuye proporcionalmente sólo al consumo del O_2, y, por lo tanto, el descenso progresivo de la campana nos da el volumen de O_2 consumido. Si se unen las puntas expiratorias por una recta resultará de dirección oblicua y, si se proyecta sobre la ordenada, podrá medirse en ésta cuánto ha bajado la campana en un tiempo dado, por ejemplo 10 minutos, o sea cuánto oxígeno se ha consumido (la altura total de la ordenada, desde el punto más alto al más bajo que puede alcanzar la campana, corresponde al volumen total de 5 litros del espirómetro, pero es necesario no hacer más que un consumo parcial). El aparato de KROGH es un poco más complicado que otros aparatos americanos, pero tiene muchas más garantías de exactitud; permite el registro de los movimientos respiratorios y elimina numerosas causas de perturbación y de error. Puede emplearse en cualquier clínica, en enfermos en cama, hasta graves, el experimento dura pocos minutos y no es penoso (1).

b) LAS LEYES FISIOLÓGICAS FUNDAMENTALES DEL METABOLISMO ENERGÉTICO.

La participación de varios órganos en las combustiones puede apreciarse (2) de la manera indicada a continuación.

Consumo de O_2 para cada órgano representando por 100 el consumo total del cuerpo en reposo.

	Organos en reposo	Organos activos
Corazón	4,0	30,6
Tubo digestivo	7,4	13,9
Riñón	7,1	21,0
Hígado	12,4	22,5
Músculos	24,1	70,1
Vísceras abdominales (sin el riñón)	24,6	41,5

Esta lista demuestra, desde el punto de vista del consumo de O_2, la gran actividad metabólica de los músculos y de las vísceras abdominales (del hígado especialmente) y nos permite pasar a consideraciones de conjunto.

Según GRAFE (3), los factores del metabolismo general en el individuo en reposo y en ayunas *(metabolismo basal* o *metabolismo de conservación)* se pueden dividir de la manera siguiente:

(1) En América es muy apreciado el aparato, no muy diferente, de CAMERON VERNON BAILEY, descrito en: *Journ. of Lab. a. clin. Med.*, septiembre 1923. Recientemente, KNIPPING *(Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XLI, pág. 343, 1924) describe un aparato cómodo, del tipo del de BENEDICT simplificado, que permite determinar el O_2 y el CO_2.

(2) Fundándose en la tabla de LOEWY, consignada en *Handbuch d. Biochemie*, de OPPENHEIMER.

(3) Obra citada.

A. Factores endógenos..
- Factores principales.... { factores protoplasmáticos / superficie corporal
- Factores de segundo orden o constitucionales (sexo, edad, estatura, etc.).
- Factores de tercer orden o accesorios (vigilia o sueño, estado de la nutrición precedente).

B. Factores exógenos...
- Temperatura exterior
- Factores climatológicos (en su gran mayoría identificados con los factores térmicos externos).

Estos distintos factores, de los cuales nos ocuparemos brevemente, determinan en su conjunto el metabolismo basal, ya citado en la Sección I y representado por una medida bastante constante, porque los factores exteriores no entran en juego más que en condiciones especiales, que también se intenta evitar en las determinaciones del metabolismo basal practicadas con fines clínicos, por lo cual éste queda esencialmente sujeto a los factores endógenos.

Factores principales. — Por un lado la verdadera necesidad de O_2 del protoplasma vivo, reducido al mínimo de las actividades funcionales compatibles con una existencia fisiológica, y por otro el esfuerzo que este protoplasma debe hacer para contrarrestar las pérdidas de calor hacia el ambiente, representan los factores principales en la fijación de la actividad metabólica: el primero es completamente intrínseco a la naturaleza del protoplasma vivo y se gradúa según la cantidad de éste en un organismo; el segundo depende de la extensión de la superficie corpórea y, por lo tanto, es función de ésta mejor que de la masa. Se puede calcular que a cada 100 gr. de N corpóreo (de proteínas vivas y respirantes, no de reserva, según la definición del capítulo V) corresponde una producción de 108-92 cal. al día, para un individuo en ayunas; pero es difícil decir cuánto protoplasma vivo verdadero, exento de materiales de reserva o de productos degradados salidos del foco de la vida, existe en un organismo. Cierto es que el consumo energético no depende de la mayor o menor *oferta* de alimento a las células: el factor protoplasmático dicho es algo autónomo, o sea, en otros términos, que las células tienen sus necesidades fijas y regulan su metabolismo según éstas, no según la disponibilidad de materia y de energía. Esta ley de la independencia de las condiciones exteriores y de la autorregulación automática de las células, llamada también *ley de* PFLÜGER, sufre varias limitaciones apenas se sale de las condiciones normales medias de la vida. El factor *superficie* influye mucho, porque es el que determina las pérdidas de energía térmica hacia el ambiente, que, por lo general, tiene una temperatura más baja que el cuerpo de los animales superiores; veremos que las *variaciones* de la temperatura representan un verdadero factor exógeno de modificación metabólica; pero el que debemos considerar aquí es la influencia *constante* que las continuas pérdidas de calor tienen en la fijación del mínimo metabólico, independientemente de sus variaciones. Se trata de la ley puesta en evidencia sobre todo por RUBNER y RICHET: en el animal en reposo y en ayunas el consumo de energía

es proporcional a la superficie corpórea. RUBNER da a esta ley, que ha encontrado aplicable tanto a la rata como al caballo, un amplio significado en la organización de los animales superiores. Por término medio, hay para cada milímetro cuadrado de superficie (1) del animal (en ayunas, en reposo y a la temperatura ambiente de 15°) una producción de 1040-1240 cal. en 24 horas; para el hombre se obtiene un valor medio de 1042 (2). La validez de esta ley y su interpretación son, sin embargo, discutidas actualmente en parte. Si la ley de la superficie estuviese en relación con la necesidad de mantener la producción térmica proporcional a las pérdidas, con objeto de conseguir mantener una temperatura corpórea superior en 20°-25° a la temperatura ambiente, esta ley no debería regir para los heterotermos, en los cuales no hay esta diferencia entre la temperatura exterior y la temperatura corpórea, y, sin embargo, también en ellos se ha encontrado cierta relación entre la superficie del cuerpo y el metabolismo. Se hace notar que también se pierden grandes cantidades de calor por la superficie pulmonar, y entonces en la ley de las superficies debería incluirse el factor correspondiente a estas superficies *internas*, cosa que RUBNER no hace. HARRIS y BENEDICT (3), en centenares de observaciones practicadas en el hombre, no pudieron confirmar la validez absoluta de esta ley. GRAFE concluye que probablemente son varias las superficies que tienen importancia para fijar la intensidad de los cambios energéticos y no solamente la superficie exterior del cuerpo y que, por lo tanto, la evaluación teórica de la ley debe incluirse en una concepción más amplia de los factores intrínsecos metabólicos principales, pero que por otra parte en la práctica es muy útil el referir la intensidad metabólica a la superficie como unidad de medida en lugar del peso o de otros elementos, porque se obtienen valores muy concordes y precisos.

Factores de segundo orden. — El metabolismo basal es en los varones un 3-7 % más alto que en las hembras; a igualdad de sexo, edad y peso es en los individuos de estatura alta un poco más intenso que en los de estatura baja. Pero el factor endógeno constitucional más importante es la edad: el consumo de energía, reducido a la unidad de peso o de superficie, es más bien más bajo en el recién nacido, 32-52 calorías por kilogramo de peso corpóreo, 460-730 calorías por metro cuadrado de superficie (en las 24 horas); pero se comprenden las dificultades con que se tropieza en este caso para determinarlo, ya que se requiere la eliminación de movimientos, el ayuno durante varias horas, etc. Crece luego hasta el 6.° mes, en el cual alcanza aproximadamente los valores del adulto, y a medida que el niño va creciendo, el metabolismo basal rebasa cada vez más los valores del adulto, hasta

(1) El cálculo de la superficie del cuerpo se hace con la fórmula de MEEH, en la cual K es una constante que para el hombre es 12,3 y en donde p representa el peso corpóreo: Sup. $= K \sqrt[3]{p^2}$.

(2) RUBNER, *Gesetze d. Energieverbrauchs*, Deuticke, Leipzig, 1902.

(3) *Carnegie Inst. Public.*, 1919.

llegar al máximo al año de edad, en cuyo punto alcanza 70-72 calorías por kilogramo y 1470-1475 calorías por metro cuadrado. Después del año hay un descenso lento, con irregularidades, hasta que a los 20 años se encuentran las cifras normales del adulto (véase más adelante).

Factores de tercer orden. — Son accesorios y no todos bien determinados. Puede admitirse una ligera influencia, en el determinismo de la norma metabólica, del estado tónico de los músculos: en el sueño, con los músculos relajados, las cifras medias del consumo descienden, pero muy poco, en comparación con la vigilia con igual inmovilidad corporal. Tiene más importancia el desarrollo muscular (BENEDICT), el cual depende del ejercicio: el atleta tiene, a igualdad de constitución, un metabolismo un poco mayor (por unidad de peso) que el no atleta. También tiene una cierta importancia el estado de nutrición, la alimentación anterior al período de ayuno en que se mide el metabolismo basal: hasta después de 24 horas de haber comido hay siempre una cierta repercusión, por decirlo así, de la excitación metabólica que produce la alimentación (véase más adelante), como BERNSTEIN y FALTA (1) han demostrado en el hombre: en los bien alimentados, el metabolismo basal se pone a un nivel más alto, mientras que en los desnutridos se adapta a una medida inferior. Hay, pues, una suma de factores, algunos de ellos individuales, no siempre bien analizables en cada caso, y algunos ciertamente en relación con el estado hormónico general (y de aquí se pasa a los casos claramente patológicos), que sirven para fijar la cifra del metabolismo basal, la cual tiene una gran constancia si es determinada en iguales condiciones. Para todo individuo adulto se encuentran, en efecto, valores iguales a distancias de meses y aun de años; damos aquí algunas cifras:

Según ZUNTZ:
24-25 cal. por kilogramo de peso corpóreo (en las 24 horas).
800 cal. por metro cuadrado de superficie (en las 24 horas).

Según BENEDICT:
en los varones: 24,2 cal. por kilogramo (en 24 horas);
780 cal. por metro cuadrado (en 24 horas);
en las hembras: 24,9 cal. por kilogramo (en 24 horas);
733 cal. por metro cuadrado (en 24 horas);

en la pubertad:
en los varones: 27,2 cal. por kilogramo (en las 24 horas);
871 cal. por metro cuadrado (en las 24 horas);
en las hembras: 27,6 cal. por kilogramo (en las 24 horas);
821 cal. por metro cuadrado (en las 24 horas).

TIGERSTEDT da la regla de que por cada kilogramo de peso corpóreo se produce cerca de una caloría por hora.

(1) *Deutsch. Arch. f. klin. Med.*, vol. CXXI, 1916.

Si se quieren dar cifras del consumo de O_2, hay, según FALK y MAGNUS-LEVY, un consumo de 3,64 cc. de O_2 por kilogramo y por minuto (hombre medio, normal y adulto). Los autores americanos han enriquecido la bibliografía médico-fisiológica con tablas y fórmulas para el cálculo de los valores por unidad de superficie, y han determinado medias bastante precisas y concordantes para la edad y las diversas condiciones corporales (1).

Factores exógenos. — Se resumen esencialmente en las modificaciones de temperatura ambiente que repercuten sobre el metabolismo: hay, en efecto, una temperatura dada en la cual el metabolismo tiene el valor *mínimo*, mientras que por encima y por debajo de ésta se observan elevaciones más o menos acentuadas del consumo y, por lo tanto, de los procesos metabólicos.

Esta influencia de las temperaturas exteriores está en relación con las necesidades de la homotermia o isotermia del organismo de los mamíferos y aves, condición física del medio interno que es mantenida con tenacidad, poniendo en juego los *mecanismos de termorregulación*. La termorregulación se llama *física* si consiste en dominar la dispersión de calor por medios físicos (la ventilación pulmonar, que transporta calor; la secreción sudoral, que representa un mecanismo de enfriamiento por medio de la evaporación de un líquido; el juego de los nervios vasomotores que producen la diversa distribución de la sangre entre las partes profundas y las superficiales del cuerpo y, por lo tanto, una diversa conservación o dispersión por irradiación del calor de este líquido interno), y se llama *química* si consiste en la modificación de las combustiones intraorgánicas, puestas en actividad precisamente para mantener la constancia de la temperatura. Cuando el organismo se encuentra a cierta temperatura externa, que para el hombre vestido es de unos 15°-16° y para los animales (conejos, perros, cobayos) y también para el hombre desnudo, de unos 30°, no es necesaria ni una ni otra forma de regulación: las pérdidas corresponden, en relación con la producción de calor, a la cantidad que basta para mantener la temperatura del cuerpo a 37°-39° (según la especie) y, por lo tanto, el metabolismo tiene el valor mínimo. Es regla fundamental en las investigaciones sobre el metabolismo basal, el trabajar en estas condiciones de temperatura exterior, precisamente para *excluir* la influencia de este factor exógeno. Cuando la temperatura rebasa la correspondiente al mínimo de cambios gaseosos, se ponen inmediatamente en juego los medios de regulación física, que son esencialmente medios de refrigeración, para eliminar la mayor cantidad posible de calor y evitar el calentamiento corpóreo excesivo (que se presenta a veces, si los mecanismos refrigerantes funcionan de un modo deficiente, como en los *accidentes producidos por el calor);* pero esta activación de los mecanismos refrigerantes, que consiste esencialmente en la intensificación de la ventilación pulmonar, mayor irrigación sanguínea periférica con aumento del trabajo del corazón y mayor actividad de las glándulas sudoríparas, significa un mayor consumo, un nuevo dispendio de energía y mayor producción de aquel calor que se quiere eliminar, pero no tanto que rebase los efectos refrigerantes. He aquí por qué el metabolismo crece, cuando la temperatura ambiente es mayor que la temperatura dicha. En cuanto a las temperaturas inferiores, según la doctrina clásica de RUBNER, producen un aumento del consumo energético precisamente porque el frío es un estímulo para el protoplasma y porque, por lo tanto, se pondría en actividad una verdadera regulación química, que, sin embargo, es discutida por algunos, por lo menos en el sentido en que la entendía RUBNER. En efecto, algunos creen que el frío aumenta el metabolismo solamente porque provoca por vía refleja contracciones musculares, hasta involuntarias (temblor) y que, por lo tanto, la elevación del metabolismo se provoca solamente en virtud de esta actividad muscular, no por una acción *directa* sobre el protoplasma. Se niega, por consiguiente (tal como lo hacen CHAUVEAU, LOEVY, etc.), una verdadera regulación química. La cuestión es compleja y nos llevaría lejos; está también relacionada con lo que sucede en la fiebre, porque también en ella hay una elevación de la termogénesis sin intervención de la actividad muscular (el temblor no aparece más que en el primer período), sino por la acción de estímulos anormales que actúan directamente sobre el protoplasma respirante, probablemente por intermedio del sistema nervioso. La termorregulación química parece comprobada en los pequeños mamíferos: cuando disminuye la temperatura por debajo de 30° y vemos aumentar en ellos el consumo de energía, no podemos admitir que, si los animales permanecen a temperaturas corrientes muy tolerables (por ejemplo, de 15°-20°), este aumento del metabolismo sea atribuíble a una actividad muscular que, por lo demás, no se observa. Parece que la sección de la médula cervical en su porción superior logra abolir la regulación química, como también la capacidad de reacción febril, en estos animales (mientras que, según FREUND y GRAFE, la sección de la médula cervical en su porción inferior y la de la médula dorsal no destruyen ni una ni otra): en estas condiciones, el animal ha perdido el poder de reaccionar al frío, por el aumento de sus combustiones; mantiene solamente la temperatura del medio y está reducido a las condiciones de un heterotermo. Las dudas acerca de la existencia y eficacia en el hombre de una regulación química son más justificadas, porque ésta es solamente puesta en actividad en raras circunstancias y es difícil de demostrar. Es difícil suprimir los movimientos musculares involuntarios que produce el frío; se necesitan para ello individuos bien adiestrados e inteligentes. HILL con CAMPBELL y HARGOOD-ADHAND (1) creen, sin embargo, haber encontrado argumentos expe-

(1) Véase: LUSK, *Chem. of science of nutrition*, Saunders, Filadelfia, 1919; y sobre todo CARPENTER, *Tables, factors a. formules for the computation respir. exchange a. biol. transform. of energ. Carnegie Instit. Public.*, 1921.

(1) *Journ. of Physiol.*, vol. LV, 1921.

rimentales seguros para admitir la termorregulación química en el hombre. Según algunos, ésta se realizaría en los músculos, y actuaría por un aumento del tono, o sea siempre a base de una actividad, aun involuntaria, de los músculos, mientras que otros dan importancia a la termogénesis del hígado; más recientemente se ha supuesto que la función tiroidea es la que activa el metabolismo, como un potente motor (GRAFE). Quizá todos estos órganos tienen una participación compleja en el fenómeno, estando, como dice ISENSCHMID, probablemente interesados *todos* los órganos en la regulación química o física, bajo la dependencia del sistema nervioso vegetativo (por lo tanto, también los músculos estriados, que parece que también tienen una inervación simpática). A propósito del tiroides, queremos recordar que han sido principalmente MANSFELD y sus colaboradores (1) los que han puesto en evidencia su importancia en la regulación química y en general en la termogénesis, y, por lo tanto, en la génesis de la fiebre, hablándose incluso de hormonas termógenas y refrigerantes; pero actualmente se sabe que el tiroides no es necesario para la termorregulación química y para la aparición de la fiebre, y su influencia sobre los fenómenos en cuestión se considera menos interesante (2).

No está bien demostrado que exista un aumento del metabolismo en invierno: el hombre previene el peligro del enfriamiento con los vestidos, con la calefacción artificial y con los movimientos musculares, y casi nunca necesita recurrir a la regulación química. También son dudosas las influencias climáticas; en todo caso, son muy pequeñas; algunos han encontrado en los trópicos una ligera reducción del metabolismo basal. Si en invierno y en los países fríos hay necesidad de más alimento que en verano y en los países cálidos, no se debe a diferencias en el metabolismo basal, sino al distinto grado de actividad muscular que el organismo pone en juego en los dos casos; efectivamente, en el primer caso el organismo lucha contra el frío intensificando la actividad muscular voluntaria, mientras que instintivamente busca el reposo en el segundo caso.

Podemos pasar ahora a considerar cuáles son las necesidades energéticas, no para el simple mantenimiento del organismo en reposo y en ayunas, sino para explicar las distintas actividades que obran como verdaderos estímulos para el protoplasma: la *alimentación* y el *trabajo muscular* son los dos *estímulos metabólicos principales*. Cuando se ponen éstos en acción, el consumo que caracteriza el metabolismo basal o metabolismo de conservación se suma al consumo de energía provocado por ellos.

Influencia de la alimentación. — Si medimos con los métodos de ZUNTZ y derivados, los cambios respiratorios de un individuo en reposo y en ayunas desde varias horas, y repetimos con él la experiencia después de la ingestión de una comida, observaremos que en el segundo caso y durante algunas horas después de la comida, los resultados están aumentados de una manera no despreciable (cerca del 10-15 % respecto al ayuno si se ha dado una comida corriente con un 15 % aproximadamente de proteínas). Si practicamos experimentos de larga duración, por ejemplo, con los métodos calorimétricos directos, los efectos son poco claros, porque los aumentos después de las comidas duran pocas horas, se « diluyen » en las varias horas de duración del experimento y quizá son compensados en parte por disminuciones metabólicas subsiguientes. Pero con los aparatos espirométricos como el descrito, que permiten ensayos de pocos minutos con breves intervalos, por ejemplo de hora en hora, se sigue muy bien el aumento del consumo de O_2 después de las comidas; y si se mide también el CO_2, puede verse la modificación del C. R. en relación con la combustión de las grasas y de los hidratos de carbono.

Si, pues, un sujeto en ayunas (y en reposo) produce en un tiempo dado 100 cal. gastando sus materiales de reserva, no se puede obtener el mismo resultado suministrándole 100 cal. exactas, porque, por el solo efecto de la ingestión del alimento, el consumo aumenta, por ejemplo, a 120 cal. por unidad de tiempo, y las 100 cal. suministradas dejan en descubierto, por lo tanto, 20 cal. que el organismo debe seguir gastando de sus propias reservas. Se puede decir que 100 cal. en forma de alimentos, no valen, en realidad, como 100, sino algo menos, respecto a las necesidades calculadas tomando como base el consumo durante el ayuno.

Mientras que ZUNTZ (1) ha considerado que este aumento del consumo por efecto de la alimentación es quizá debido al trabajo del tubo digestivo, y ha hablado de un aumento genérico de las actividades funcionales de los varios aparatos que intervienen en la digestión, la absorción y la distribución de los alimentos, RUBNER ha introducido el concepto de la *acción dinámica específica de los alimentos;* éstos producen una excitación metabólica actuando más allá del tubo digestivo, en el metabolismo intermedio, y precisamente porque todos los materiales alimenticios deben transformarse en azúcar y ser utilizados en forma de tal, perdiendo así una parte de su energía en este proceso de transformación, siempre exotérmico; si el animal es de temperatura *inferior* a la que corresponde al metabolismo mínimo (30° para el perro), esta energía sería empleada en las necesidades de la termogénesis, y, por lo tanto, no inútilmente disipada (y no aparecería la acción excito-metabólica); en cambio, si el animal está solamente sometido al consumo basal, por lo tanto a temperatura apropiada y que no implica una necesidad de calorificación por medio de la termorregulación química, se dispersa sencillamente y resta una cierta cantidad al valor energético de los alimentos. Según el modo de

(1) *Pflüger's Arch.*, vol. CLXI y CLXXXIV.
(2) ISENSCHMID, *Medic. Klin.*, 1922; GRAFE y REDWITZ, *Zeitschrift f. physiol. Chem.*, vol. CXIX, 1922.

(1) *Mediz. Klin.*, 1910, además del capítulo en *Handb. d. Bioch.* de OPPENHEIMER.

ver de RUBNER, solamente las grasas y las proteínas tendrían la acción dinámica específica, y en realidad, en el perro, la acción excito-metabólica del azúcar es muy pequeña en comparación con la de las grasas y, sobre todo, con la de las proteínas. Se puede también deducir que no puede hablarse de una verdadera isodinamia de los alimentos en el sentido descrito en la Sección I, si se considera el animal a 30°, por lo tanto al abrigo de toda exigencia de termogénesis *extra* para las necesidades de la termorregulación, esto es, cuando aparece claramente la acción dinámica específica en el sentido de RUBNER. En efecto, si es distinta la acción dinámica específica, por ejemplo, de las proteínas y de los hidratos de carbono, máxima para las primeras y casi nula para los segundos, será distinta la cantidad que habrá que restar de su valor energético para tener su aptitud real para cubrir las necesidades orgánicas: 100 calorías en forma de proteínas, por ejemplo, serán utilizadas como 70 calorías y el resto será disipado en forma de calor, el cual será, según RUBNER, el efecto accesorio de la transformación de las proteínas en glucosa; en cambio, 100 calorías en forma de azúcar, serán utilizadas completamente o casi completamente para las necesidades celulares y, por lo tanto, $n \times 4{,}1$ gr. de proteínas no son isodinámicos con $n \times 4{,}1$ de hidratos de carbono, sino con algo menos. Lo mismo puede decirse para las grasas comparadas con los hidratos de carbono. Pero actualmente no se sabe con seguridad si el mecanismo de la acción excito-metabólica de los alimentos es el supuesto por RUBNER. Por lo tanto, es necesario distinguir los diversos materiales alimenticios; es cierto que las proteínas tienen la acción dinámico-específica máxima, aun cuando las cifras precisas varían bastante según los autores: después de una comida proteica se ha observado hasta un aumento del 33 % del metabolismo, aumento que, sin embargo, alcanza generalmente una cifra más modesta, y parece que está en relación con la cantidad de proteínas ingeridas: según GIGON (1), el metabolismo crece más aprisa que la cantidad de proteínas administradas, porque, dando de éstas cantidades que aumenten según la serie 1 : 2 : 3 : 4, el consumo de O_2 crece en la proporción de 1 : 3 : 6 : 9, respecto al ayuno. El metabolismo máximo se alcanza después de 3-5 horas de la comida proteica, y tanto más tarde cuanto más altas son las cantidades administradas. No hay diferencias entre las proteínas animales y las vegetales (BENEDICT y CARPENTER). No puede tratarse en esta acentuada acción aceleradora e intensificadora del metabolismo, propia de las proteínas, solamente del factor glucogenético supuesto por RUBNER, y, efectivamente, LUSK (2) aduce argumentos decisivos contra esta concepción: está demostrado que muchos aminoácidos tienen una acción dinámica específica como las proteínas, pero no hay ninguna relación entre la aptitud glucogenética de cada uno y su acción dinámica específica. La glicocola y la alanina

(1) *Pflüger's Arch.*, vol. CXL.
(2) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XX, pág. 10.

se transforman enteramente en azúcar con todos sus átomos de C, mientras que el ácido glutámico se transforma solamente con tres de sus cinco átomos de C; por lo tanto, los dos primeros aminoácidos no deberían tener acción dinámico-específica acentuada, porque su transformación en glucosa no es una reacción — digámoslo así — costosa, mientras que el último debería tener bastante, y, por el contrario, la experiencia ha demostrado a LUSK que la glicocola y la alanina son los aminoácidos que tienen un poder excito-metabólico más acentuado, mientras que el ácido glutámico no tiene casi ninguno (solamente lo poseería a altas dosis, según GRAFE). El ácido láctico, el ácido acético y el ácido glicólico tienen un poder notable en este sentido, por lo cual LUSK cree que la acción dinámica específica de las proteínas depende de influencias excitantes del metabolismo, debidas a productos de transformación de los aminoácidos. GRAFE ha puesto en evidencia una acción excitante de las sales de amonio, y cree que alguna parte debe atribuirse a los grupos NH_2 separados de los aminoácidos. ABELIN (1) encuentra que varias substancias activas sobre el sistema nervioso vegetativo elevan la acción dinámica específica de la carne (y del azúcar): así pasa con la feniletilamina, la tiramina y ciertas hormonas tiroideas, y cree que los productos metabólicos intermedios derivados de las proteínas, del tipo de las aminas biógenas, ejercen su acción específica por intermedio del sistema nervioso vegetativo. Después de lo dicho en el capítulo precedente acerca de la influencia excito-metabólica o reguladora de los distintos productos catabólicos (GOTTSCHALK y otros), podemos comprender mejor la acción dinámica específica de los alimentos en general y de las proteínas en particular. Varios órganos y sistemas deben tomar parte en el aumento de las combustiones después de la ingestión de proteínas: el hígado debe ser uno de los principales centros de excitación metabólica, aun cuando AUB y MEANS (2) no hayan podido demostrar una reducción de la acción dinámica específica de la carne, en los enfermos del hígado. De los datos de ABELIN podría deducirse que el tiroides debe ser un órgano particularmente responsable de la excitación metabólica de las proteínas. Si las proteínas son administradas repetidamente, se observa lo que RUBNER ha llamado acción dinámica específica *secundaria;* la excitación metabólica crece cada vez más, hasta un máximo, que se alcanza con la nivelación del balance nitrogenado, y que quizá está en relación con la formación de nuevo protoplasma vivo y respirante.

Los hidratos de carbono tienen también una cierta acción dinámica específica, especialmente en el hombre, lo cual bastaría para contradecir la clásica explicación de RUBNER; hasta los hay que la tienen mayor que las grasas. Pero ésta sólo se observa bien si el individuo está bien nutrido, con depósitos de glucógeno; de otro modo, los hidratos

(1) *Bioch. Zeitschr.*, vol. CXXIX; *Klin. Woch.*, 1922, n.° 44.
(2) *Arch. of intern. Med.*, vol. XXVIII, 1921.

de carbono son almacenados y no manifiestan su acción excito-metabólica. En los hidratos de carbono, ésta es breve; alcanza el máximo una o dos horas después de la comida (absorción rápida) y desaparece al cabo de 5-6 horas; no sobrepasa nunca el 10 % del consumo en ayunas. Es más acentuada con la levulosa que con la glucosa; también con la sacarosa es mayor que con la glucosa, porque se escinde y produce la mitad de levulosa, que es un estímulo metabólico bastante fuerte, que se aprecia hasta en el hombre empobrecido en glucógeno. Obsérvese que varios productos intermedios del metabolismo de los aminoácidos conocidos por tener acción excito-metabólica, se encuentran también en la degradación de los hidratos de carbono y pueden explicar la acción dinámica específica de éstos.

Las grasas tienen en el hombre una acción dinámica específica mínima (aumento de un 2-2,5 % de las combustiones), incluso hay observaciones que demostrarían una ligera acción depresiva sobre el metabolismo. Se han descrito ligeras acciones excitantes de algunas substancias extractivas, como la pimienta, otros condimentos y el café. El cloruro sódico (grandes dosis) tiene también cierta acción en este sentido: la *fiebre de la sal* es una prueba de la acción excitante de la sal sobre la descomposición proteica y sobre el metabolismo en general.

Influencia del trabajo muscular. — Es mucho más acentuada que la influencia alimenticia. Si se trata de proporcionar un número n de kilográmetros de trabajo por parte de la máquina animal, como el rendimiento o efecto útil del sistema muscular en el organismo es de cerca del 30 %, es necesario gastar algo más de $3 \times n$ kgrm., exactamente $\frac{100 \times n}{30}$ kgrm. Ahora bien, siendo 425 el equivalente mecánico de la caloría (es decir, que 1 cal. = 425 kgrm.), para tener $\frac{100 \times n}{30}$ kgrm. es necesario emplear $\frac{100 \times n}{30 \times 425}$ calorías. Podremos decir que cuando el individuo hace un trabajo de n kgrm., se añade al metabolismo basal tanta energía como corresponde a $\frac{100 \times n}{30 \times 425}$ calorías.

Si en un día un obrero con trabajo no muy fatigoso debe producir 150 000 kgrm., deberá añadir a la aportación energética adecuada para cubrir el metabolismo basal, además de la cantidad de calorías (grandes) (por ejemplo, 200) que corresponde a la excitación metabólica debida a la alimentación, una cantidad de calorías suficiente para producir aquel trabajo, que puede calcularse así: $\frac{100 \times 150\,000}{30 \times 425} = 1176$ calorías aproximadamente. De este modo se entra en el cálculo de las raciones alimenticias, que ahora podemos descomponer en sus elementos mejor que lo habíamos hecho en la Sección I. Dicho obrero, supuesto un metabolismo basal de 1800 cal., deberá gastar (y, por

lo tanto, introducir con los alimentos) las siguientes cantidades de energía:

Metabolismo	1800	Calorías
Para reparar la acción dinámica específica de la alimentación	200	»
Para el trabajo de 150 000 kgrm.	1176	»
Total	3176	»

El rendimiento del trabajo muscular mejora con el descanso, la disciplina en el trabajo y la precisión de los mecanismos nerviosos de control y de coordinación: en esto se basa el *Taylorismo* aplicado al trabajo industrial. Nosotros nos limitaremos a decir aquí que mientras durante la jornada, por la alternación de los períodos de reposo con los de trabajo, el dispendio energético por efecto del trabajo puede ser aumentado sólo dos o tres veces respecto al reposo, cuando se consideran breves períodos pueden obtenerse exaltaciones metabólicas de 5-7 veces y hasta (atletismo y acrobatismo) de 20 y 30 veces, en comparación con el metabolismo basal. Siendo 70 cal. el metabolismo basal de un adulto para una hora, la marcha en terreno llano, con 25 kilogramos de peso añadido, exige 285 cal. de más (aumento del 420 %), y en una carrera en bicicleta con viento contrario puede exigir 600 cal. de más (aumento del 900 %).

El tono muscular se realiza sin dispendio energético apreciable, tanto que no hay más que una diferencia mínima entre el consumo en posición horizontal o sentada, el consumo en pie (posición cómoda) y hasta el consumo en posición rígida de «firmes». Por el contrario, bastan los más pequeños movimientos voluntarios para aumentar el metabolismo de una manera notable, noción que hay que tener presente en muchas aplicaciones higiénicas y terapéuticas. En efecto, basta levantar 2-3 veces por minuto el brazo por encima de la cabeza para elevar en un 10 % los cambios gaseosos.

El efecto del trabajo muscular sobre el metabolismo prosigue hasta después de la cesación del trabajo; 7 horas después de un trabajo intenso se obtienen aún cifras elevadas del metabolismo, y a veces hasta durante el sueño que sigue al trabajo.

Esta acción póstuma no debe sorprendernos: en el músculo es precisamente la restauración la que, como se ha dicho en el capítulo VII, va acompañada de fenómenos de oxidación con un fuerte efecto térmico positivo.

El período de aumento metabólico póstumo implica la necesidad de una *corrección de los valores dados para el efecto útil o rendimiento del trabajo muscular;* en el fondo es una dispersión energética, que reduce el verdadero rendimiento. Entran aquí en juego, como en toda cuestión de rendimiento, muchos factores individuales.

La fatiga depende del acúmulo de ácidos láctico y fosfórico en el músculo y de deficiencia del oxígeno para los procesos de reparación:

WEBER (1) ha demostrado la vasoconstricción que sigue en la fatiga a la vasodilatación del trabajo normal. Si, fatigado un grupo de músculos, entra otro en actividad, con la vasodilatación en los nuevos músculos que trabajan, se atenúa la vasoconstricción de los fatigados. En realidad, el individuo fatigado pone instintivamente en actividad otros grupos musculares no necesarios, y con esto eleva el consumo total, con una pérdida notable de energía. Estas observaciones demuestran toda la complejidad del problema de la fatiga desde el punto de vista energético y químico; el músculo que trabaja en el organismo no puede compararse de un modo absoluto con el músculo aislado de los experimentos del fisiólogo.

En el capítulo VII ya hemos dicho que el músculo sólo quema directamente los hidratos de carbono; esto parece desprenderse también, a pesar de algunas incertidumbres, de los experimentos en el organismo entero. Por lo tanto, las grasas deberían ser, como las proteínas, transformadas en azúcar (2). En realidad, KROGH y LINDHARD (3) han observado recientemente que el trabajo resulta más *económico*, esto es, corresponde a un mayor rendimiento de las calorías suministradas, si lo son en forma de hidratos de carbono que si se queman solamente grasas. Las incertidumbres dependen de que en el trabajo: 1.°, aumenta la ventilación pulmonar, y 2.°, se forman productos metabólicos ácidos; por estas dos razones es expulsado el CO_2 de la sangre en mayor cantidad, por lo cual el C. R. crece, como crecería por la combustión de los hidratos de carbono. Por lo tanto, la norma fundamental para averiguar, fundándose en los cambios respiratorios, si se queman sólo hidratos de carbono o también grasas, es defectuosa en este caso, porque las dos causas dichas oscurecen el significado de la relación $\frac{CO_2}{O_2}$.

Las proteínas no son atacadas más que en el *individuo hiponutrido* o bien con un aporte de N correspondiente *solamente* al mínimo (definido en la Sección I), y en la *fatiga intensa* (especialmente si se produce hipertermia y disnea). Por lo demás, el trabajo muscular regular y moderado, en un individuo bien nutrido, no ocasiona un aumento de la eliminación del N; el glucógeno y la grasa (previa transformación en azúcar) bastan para producir la energía necesaria para el trabajo muscular.

(1) *Arch. f. Anat. u. Physiol., Physiol. Abt.*, 1914.

(2) Se debe especialmente a CHAUVEAU *(Compt. rend. Acad. des Sciences*, tomo 105, en adelante) y más recientemente a BENEDICT y CATHCART la doctrina según la cual en el organismo los distintos materiales pueden obrar de combustible para el sistema muscular en cuanto son transformables en glucosa: la ley de la isodinamia, debería ser sustituída, según CHAUVEAU, por la de la *isoglucosicidad*, según la cual todo material puede ser sustituído por otro en razón de los *pesos isoglucósicos*, es decir, de la cantidad de glucosa que cada uno puede producir.

(3) *Bioch. Journ.*, vol. XIV, 1920.

c) EL METABOLISMO EN EL AYUNO Y EN LA HIPONUTRICIÓN.

En el *ayuno absoluto*, tan estudiado por los fisiólogos, porque, con la abolición de la actividad digestiva y del metabolismo intermedio de los alimentos, ofrece circunstancias de relativa sencillez para el estudio de los procesos del metabolismo, hay una *pérdida del peso corporal*, máxima en los primeros días, menor en los días sucesivos, hasta llegar a la muerte que sobreviene en el hombre después de un período de tiempo muy variable, según varios factores individuales, de los cuales uno de los más importantes es el estado de nutrición precedente. El alcalde de Cork, el irlandés encarcelado por los ingleses en 1920 y que se sometió voluntariamente a la privación sistemática de todo alimento, vivió 75 días. Generalmente en los mamíferos sobreviene la muerte cuando se ha reducido el peso a cerca de la mitad.

En los perros se han observado ayunos de 104-117 días con pérdida del 60 % del peso. Los cobayos y conejos son muy sensibles al ayuno y mueren en pocos días.

Con el estudio de varios ayunadores profesionales *(Succi, Cetti, Breithaupt, Levanzin*, etc.), se han obtenido muchos datos interesantes: así, parece comprobado, contrariamente a la opinión sostenida en otro tiempo por RUBNER, que la intensidad de las combustiones va descendiendo lentamente en el ayuno, y el descenso es evidente tanto si referimos las mediciones a la unidad de peso como si las expresamos por unidad de superficie. Parece que hay una ligera elevación del metabolismo durante el segundo día del ayuno, pero después desciende más o menos, según varios factores individuales difíciles de analizar en cada caso. Por lo tanto, el protoplasma vivo, bajo la influencia de la privación permanente de alimento, reduce sus propias descomposiciones, como si intentase adaptarse a las nuevas y desfavorables condiciones. Es, por lo tanto, «una adaptación del metabolismo a las necesidades» como dice PFLÜGER, reconociendo así una desviación de la ley por él formulada (pág. 693) de la independencia del metabolismo con relación a las condiciones exteriores. Sin embargo, se trata de una desviación que entra en la acepción más amplia de la misma ley, porque es expresión de una autorregulación frente a un estado anormal que tiene por objeto ahorrar durante el mayor tiempo posible los componentes celulares, de la destrucción inevitable. En el ayuno son rápidamente consumidos los depósitos de glucógeno, aunque parece que una pequeña cantidad de este precioso material se conserva hasta los últimos momentos, pero la parte principal de las necesidades energéticas es cubierta por la combustión de las grasas de reserva, que son extensamente movilizadas *(lipemia* del ayuno). Según TIGERSTEDT, un ayunador produce en 24 días de ayuno 40 092 calorías, de las cuales 1230 (= 3,1 %) derivan de la combustión de los hidratos de carbono, 5248 (= 13,1 %) de la combustión de las proteínas y 33 614 (= 83,8 %) de la de las grasas. Para el metabo-

lismo proteico tenemos en el ayuno este hecho interesante : la eliminación de N, índice de la descomposición proteica, llega al máximo entre el 3.° y el 5.° día de ayuno (12-7 gr. en 24 horas) ; luego va reduciéndose, guardando cierto paralelismo con la reducción progresiva de los cambios respiratorios y, por lo tanto, del metabolismo total. Se diría, pues, que el organismo tiende a colocarse en un plan de economía general y de una manera especial de proteínas. Sin embargo, no es de extrañar que existan grandes variaciones individuales : *Succi*, estudiado por LUCIANI, al 30.° día de ayuno eliminaba 7-8 gr. de N *pro die*, mientras que el ayunador de TIGERSTEDT al 20.° día eliminaba solamente 5,43 gr. Parece que en los animales pequeños la descomposición proteica es relativamente más acentuada que en el hombre. Está también comprobado que en los animales de experimentación la descomposición proteica vuelve a aumentar en los últimos días del ayuno y este aumento es tanto más precoz cuanto más pequeño es el animal (E. VOIT). Se habla, por lo tanto, de una desintegración proteica *premortal*, cuya existencia tardía es también probable en el hombre, aun cuando no haya sido demostrada en los experimentos, que por razones evidentes se suspenden antes de llegar a este período, que lleva consigo un peligro de muerte y en el cual algunos han creído que se debía admitir la intervención de verdaderos factores autotóxicos. Hemos ya citado (Cap. IV, c) entre las modificaciones *cualitativas* del metabolismo en el ayuno, la cetosis o acetonemia con acidosis correspondiente ; tenemos también, según datos más antiguos, por ejemplo de LUCIANI, un fuerte descenso del C. R. hasta 0,5, que ha hecho pensar en la transformación de la grasa en azúcar, pero que actualmente parece haber perdido alguna importancia gracias a las investigaciones de BENEDICT (1) y de GRAFE (2). GRAFE cree que los bajos valores del C. R. no son debidos, en ciertos experimentos, a modificaciones importantes del metabolismo intermedio sino a retención del CO_2 en el organismo ; esta misma explicación puede también aplicarse al bajo C. R. observado en los animales en *letargo*.

En la *hiponutrición* o *ayuno relativo*, según las investigaciones de GRAFE (3) y sobre todo las extensísimas y recientes de BENEDICT y sus colaboradores, se observa frecuentemente una disminución de los procesos metabólicos totales calculados por unidad de peso o de superficie, por lo cual también en este caso hay un esfuerzo compensatorio evidente y constante del protoplasma, que intenta nivelar el consumo con la reducción de las entradas. En el perro, este comportamiento es aún más evidente y constante, y está sujeto a menores variaciones individuales que en el hombre. ZUNTZ y LOEWY (4) practicaron interesantes comprobaciones en sí mismos durante el período de hipo-

(1) *Carnegie Inst. Public.*, CCIII, 1915.
(2) Op. cit. ; y *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. LXV, 1910.
(3) *Carnegie Inst. Public.*, CCLXXX, 1919.
(4) *Berlin. klin. Woch.*, 1916, n.° 30.

nutrición forzada debido a la guerra : el metabolismo se reduce, y así en LOEWY el consumo de O_2 por metro cuadrado de superficie corpórea disminuyó en un 19 % y la producción de calor en un 17,2 %, para una pérdida de peso de 8,5 %. Según estos autores, más tarde, con una desnutrición más avanzada, se obtienen nuevos aumentos del consumo material, y la producción térmica vuelve a la cifra normal. GRAFE, en mujeres con profunda desnutrición por causa psicógena, cuyo peso estaba comprendido entre los 30 y 35 kg., encontró consumos de O_2 por kilogramo y minuto de 5,26, 5,86, 7,25 y 4,60 cc., y producción de calor por día y por kilogramo de 36,6, 40,8, 49,1 y 32,4 cal., por lo tanto, valores no inferiores a los normales. Sin embargo, en muchas otras observaciones clínicas practicadas en grados extremos de desnutrición, como en la convalescencia de ciertas enfermedades, en ciertos estados psicopáticos, etc., se ha observado una reducción metabólica bien clara, como una verdadera « adaptación a una entrada energética reducida » (LUSK). Si la alimentación es un estímulo metabólico, no debe maravillarnos que la reducción duradera de este estímulo produzca una depresión metabólica y una limitación funcional general. A medida que la desnutrición avanza y se reduce la masa protoplasmática, es natural que se reduzca también el consumo energético que corresponde a una menor cantidad de substancia viviente y respirante.

Por lo que se refiere al metabolismo proteico en la hiponutrición, se encuentran tres períodos consecutivos : en el primero hay un paralelismo evidente entre el metabolismo general y el metabolismo proteico, que es, en cierta manera, el indicador más delicado de la mayor o menor suficiencia de una ración desde el punto de vista energético (GRAFE) ; si, pues, la dieta es insuficiente, habrá un balance negativo del N, por lo cual el organismo se empobrecerá en materiales protoplasmáticos. En un segundo período las pérdidas de N van siendo cada vez menores respecto a las entradas, y por lo tanto se vuelve gradualmente, pero no de un modo brusco, a un nuevo balance perfecto y hasta a veces débilmente positivo, del N ; es decir que el metabolismo nitrogenado se desentiende del metabolismo general, y el organismo intenta ahorrar el precioso material proteico de su propia trama poniéndose en un plan de gran economía proteica, que a veces hasta permite el ahorro de pequeñas cantidades de N a pesar de que la ración es energética y materialmente pobre. Un enfermo de F. MÜLLER, extremadamente desnutrido, que pesaba 32 kg., con una ración diaria de 765 cal. y con 7,602 gr. de N, fijó durante 5 días 1,7 gr. de N al día por término medio. En los convalecientes de largas enfermedades se observa esta tendencia a la retención nitrogenada hasta con regímenes calóricamente insuficientes. El tercer período, cuya observación es muy difícil en el hombre, está caracterizado por el aumento de las pérdidas de nitrógeno, por volverse al balance negativo y hasta algunas veces (no siempre) del todo irremediable ; tenemos en este caso el equivalente de la desintegración proteica premortal, citada a propósito del

ayuno total. Es notable que las primeras absorciones de alimento después de un período de hiponutrición producen una excitación metabólica acentuadísima.

d) El metabolismo en la hipernutrición.

La primera cuestión interesante para el médico es saber si una hipernutrición duradera (que sin embargo sea naturalmente dominada por las fuerzas digestivas) puede conducir a una elevación estable de los cambios, a un metabolismo más intenso, contrariamente a la ley de Pflüger de la independencia entre el consumo celular y las disponibilidades nutritivas. Hemos visto que esta independencia dejaba de existir en el caso de la hiponutrición; y aquí debemos preguntarnos si también la hipernutrición es capaz de determinar una excepción en un sentido naturalmente opuesto. La alimentación es un estímulo metabólico, como se ha dicho hablando de la acción dinámica específica de los alimentos y en especial de las proteínas; ahora bien: ¿esta especie de acción dinámica específica *secundaria* y *permanente* puede aparecer como una elevación estable del ritmo metabólico, per efecto de absorciones abundantes y continuamente excesivas de alimentos? Según Grafe y Graham (1) no hay ninguna duda sobre la excitación metabólica por hipernutrición: un perro puede absorber durante muchas semanas 3-4 veces la cantidad alimenticia necesaria, sin aumentar de peso y hasta perdiendo algo; sus cambios respiratorios, medidos a distancia de las comidas y por lo tanto fuera de toda influencia dinámica específica primaria, presentan pronto un aumento del 40 % respecto al período precedente al experimental. Grafe y Koch (2) pudieron demostrar algo semejante en el hombre: los enfermos que han pasado un período de hiponutrición y que después son sometidos a hipernutrición, presentan un retorno rápido al peso normal: si la hipernutrición continúa, el peso crece algo más y a veces hasta desciende un poco, mientras que los cambios respiratorios presentan elevaciones del 70-80 % y las calorías producidas (calculadas por unidad de peso o de superficie, fundándose en el consumo de O_2) están aumentadas notablemente respecto al período precedente o respecto a las cifras normales conocidas. Contrariamente a la opinión de muchos fisiólogos, Grafe admite que hay en tales casos un verdadero *consumo de lujo*, pero entendido en el sentido de que el aporte excesivo de materiales alimenticios no conduce al aumento de substancia corpórea, como, por ejemplo, de materiales de reserva, sino que *en ciertos casos* se produce un aumento del consumo, una especie de gasto energético mayor, un ajuste metabólico a un nivel más alto. Hay individuos que presentan de una manera más marcada esta tendencia al consumo de lujo, o sea, en otros términos, una desproporción entre la absorción

(1) *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. LXXIII, 1911.
(2) *Deutsch. Arch. f. klin. Med.*, vol. CVI, 1912.

de alimentos y el aumento de peso, una íntima dependencia del ritmo metabólico respecto a la cantidad de alimento, y en los cuales todos los aumentos en el aporte alimenticio, por ligeros que sean, se traducen en excitaciones metabólicas, siendo casi siempre imposible que almacenen materiales de reserva; estos individuos permanecen flacos a pesar de un régimen alimenticio abundante, aun sin sufrir enfermedades que llevan consigo un aumento del metabolismo. Pero no sabemos con seguridad qué valor tienen las investigaciones de Grafe, que Benedict ha sometido a la crítica. Es cierto que, por lo menos para determinados individuos, hasta los profanos se dan perfecta cuenta de la desproporción que existe entre la abundancia de la ración y el estado organico general y en especial de los depósitos de grasa, lo cual hace pensar que en los distintos individuos el protoplasma adapta su propio consumo de un modo variable según sean las ofertas alimenticias.

La facultad del protoplasma de elevar sus propias fuerzas oxidativas frente a un exceso de *pabulum* es como una medida de precaución contra la obesidad; serían obesos o dispuestos a la obesidad endógena (Cap. IV, *d*) aquellos individuos en los cuales no es posible un consumo de lujo en el sentido de Grafe, en los cuales los cambios metabólicos siguen un ritmo lento y así se mantienen frente al estímulo alimenticio, por lo cual hasta el más pequeño exceso alimenticio se traduce en depósito de substancias, y no en un aumento del metabolismo. Según Eckstein y Grafe (1) el tiroides tiene una parte importante en el determinismo de estos accidentes metabólicos de carácter marcadamente constitucional. Podría creerse que la aptitud para el consumo de lujo o la sensibilidad de los cambios orgánicos al estímulo alimenticio está en relación con un alto grado de capacidad funcional tiroidea.

En el lactante afecto de *atrepsia*, como Bahrdt y Edelstein han observado especialmente (2), habría un acentuado consumo de lujo, o en otros términos, una elevación permanente de las oxidaciones o un ritmo metabólico acelerado.

e) Otras modificaciones metabólicas.

Una discusión que nos llevaría demasiado lejos es la relativa a la influencia que las oscilaciones de *la cantidad de oxígeno contenido en el aire exterior* pueden tener sobre el metabolismo. En los animales inferiores y en células y tejidos aislados se han encontrado a veces modificaciones metabólicas dependientes de la oferta de O_2, en el sentido de un aumento de las oxidaciones cuando se eleva la presión parcial de este gas en el medio, y viceversa; así Hentze (3) en las actinias y en el *sipunculus* habría demostrado un aumento del consumo de O_2 en agua más rica en este gas que el agua del mar en condiciones usuales.

(1) *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. CVII, 1919.
(2) *Zeitschr. f. Kinderheilk.*, vol. XII, 1915.
(3) *Bioch. Zeitschr.*, vol. XXVI, 1910.

En los mamíferos, cuando se estudia el metabolismo total, no se consigue generalmente demostrar una dependencia entre éste y la presión parcial del O_2, porque naturalmente no se trabaja en condiciones extremas y además éstas no son fácilmente realizables; sabemos que la hemoglobina tiene una gran avidez para este gas y que la cantidad de O_2 combinado por dicho pigmento no disminuye sensiblemente para presiones del gas no inferiores a 50 mm. de Hg. Existen además muchos mecanismos compensadores y reguladores, circulatorios y respiratorios, que contribuyen a moderar los efectos de las variaciones de concentración del O_2 en el aire sobre la provisión de O_2 a los tejidos y, por lo tanto, sobre la respiración de los tejidos mismos. Notemos que en el llamado «mal de montaña», en el cual se deberían presentar los efectos de una oxidación reducida por el descenso de la presión del O_2 si efectivamente hubiese una relación directa entre la intensidad metabólica y la oferta de O_2 a los tejidos, parece comprobado, por el contrario, que hay un aumento de la producción térmica y una elevación del ritmo metabólico. Por otra parte, los experimentos de HASSELBACH y LINDHARD (1), hechos en la cámara pneumática, a presiones muy bajas y con éxito negativo en lo referente a las modificaciones de los cambios respiratorios, demuestran que estas modificaciones no se deben a la menor tensión del O_2 ni a la menor presión atmosférica en general. Deben influir en el mal de montaña varios factores climáticos complejos, la fatiga, las necesidades de la termoregulación, quizá la irradiación solar (no parece, sin embargo, que los rayos ultravioletas aumenten por sí solos los cambios gaseosos), etc. Cuando aparecen las manifestaciones del mal de montaña, hay también un aumento de la destrucción proteica; en cambio la permanencia a alturas medias, sin fenómenos de mal de montaña, está caracterizada por una tendencia a la retención de N (de donde la influencia favorable de estas curas de altura moderada sobre muchas enfermedades con tendencia a la escisión proteica exagerada). Acerca de otros puntos del metabolismo en la altura, véase Sección II, Cap. VI, *b*.

Tampoco el aumento de la concentración del O_2 en la atmósfera, hasta un 70-80 %, ocasiona modificaciones del consumo de O_2, y puede decirse que la ley de PFLÜGER de la independencia metabólica respecto a los materiales puestos a disposición de las células, está comprendida dentro de una extensa zona, por lo que se refiere al oxígeno.

Pero si examinamos lo que pasa en el organismo enfermo, podemos encontrar divergencias dignas de tenerse en cuenta: en enfermos con alteraciones circulatorias o con afecciones respiratorias, en los cuales está, pues, dificultada la absorción de O_2, el enriquecimiento de la sangre con este gas (obtenido artificialmente, por ejemplo, con inhalaciones) es útil y puede producir una excitación metabólica según las leyes de los equilibrios químicos, por las cuales el aumento de

(1) *Bioch. Zeitschr.*, vol. LXVIII y LXXIV.

concentración de los cuerpos puestos en presencia acelera el desarrollo de la reacción (SCHADE).

La cuestión de la influencia que las *variaciones de diversas constantes físico-químicas del medio orgánico interno* pueden tener sobre el metabolismo, es muy compleja: así, la acidosis parece que retarda los procesos metabólicos, y que la alcalosis los excita. Pero no existen actualmente datos concordantes y seguros.

Las *glándulas de secreción interna* tienen una gran importancia para la regulación del metabolismo general, además de la influencia que poseen sobre determinados sectores (véase a propósito del metabolismo intermedio de los hidratos de carbono, de las grasas, etc.). Así se ha hablado ya de la probable *participación tiroidea* en el determinismo de la acción dinámica específica de los alimentos y del llamado consumo de lujo (GRAFE). La tiroidectomía va acompañada de un descenso, aproximadamente de un 20 % por término medio, del metabolismo general; igualmente se observan valores bajos de los cambios respiratorios en todos los casos clínicamente seguros de hipotiroidismo. Viceversa, en la enfermedad de BASEDOW es constante y típico el aumento de los cambios respiratorios y de la termogénesis: según varios autores americanos y alemanes, es éste el síntoma más constante y seguro de la enfermedad de BASEDOW, de gran valor en el diagnóstico diferencial con los bocios de basedowianos, formas neurasténicas, tuberculosis iniciales con taquicardia, etc.

Son mucho menos constantes y acentuadas las influencias de las *glándulas sexuales* sobre el metabolismo: después de la castración se ha observado a veces una disminución de las oxidaciones, pero otras, como ha visto LÜTHJE en perros y ZUNTZ (1) en la mujer, no hay ninguna influencia marcada. En el fondo esto corresponde al hecho de que después de la castración o después de la menopausia no todos los hombres ni todas las mujeres se vuelven obesos. El embarazo produce seguramente una cierta elevación del metabolismo.

La *hipófisis* influiría como el tiroides en las combustiones orgánicas; así, para citar las investigaciones más precisas, BENEDICT y HOMANS (2), después de extirpar a los perros casi toda la hipófisis excepto un pequeño resto del lóbulo anterior, encontraron una reducción del 20-50 % en la eliminación del CO_2. Pero no es fácil diferenciar la parte debida a la supresión del órgano de la que es debida a lesiones de los centros nerviosos vegetativos del hipotálamo, tan cercanos y numerosos. Parece que los extractos del lóbulo posterior o quizá, más precisamente, de la lámina epitelial o *pars intermedia*, excitan el metabolismo, mientras que para los del lóbulo anterior no hay concordancia absoluta, pero parece que más pronto hay una acción inhibidora del metabolismo, con aumento del C. R. (3). No hay muchos datos, ni

(1) *Centralbl. f. Gynaekol.*, vol. XLVIII.
(2) *Journ. of med. research.*, vol. XXV, n.° 3, 1912.
(3) BERNSTEIN, *Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Ther.*, vol. XV, 1914.

son concordantes, acerca del metabolismo en las enfermedades hipofisarias del hombre. En otro lugar hemos hablado de la *obesidad endógena* por causa tiroidea, hipofisaria, genital, etc.; aquí no haremos más que indicar que como resultado de numerosas investigaciones metabólicas, se ha venido a la conclusión de que sólo en los casos endógenos puros hay una reducción de los procesos oxidativos, y GRAFE considera característica de la obesidad endógena, más que la reducción de las combustiones durante el ayuno, la escasa acción dinámica específica de los alimentos, por lo tanto una especie de tendencia económica especial de estos organismos, por la cual el estímulo alimenticio tiene poca influencia sobre el metabolismo y por esto puede depositarse como reserva de grasa una cantidad mayor de alimento. Varios autores han dado una gran importancia a la retención acuosa en la génesis de los grandes pesos corporales (1), lo cual haría parecer racional en la obesidad las curas deshidratantes, declorurantes, diaforéticas, a base de aguas minerales purgantes, etc. Señalemos también la acción excito-metabólica de la *adrenalina*, que se manifiesta también con aumento de la termogénesis. Parece que en este caso se halla particularmente aumentada la combustión de los azúcares, de donde proviene el frecuente aumento del C. R.; mientras que la escisión proteica es solamente excitada por la adrenalina en ciertos casos, especialmente en el estado de ayuno o de hiponutrición o cuando se dan dosis muy elevadas y hasta tóxicas. En la enfermedad de ADDISON hay un metabolismo normal o deprimido.

Acerca del metabolismo en la *diabetes*, ya hemos hablado en su debido lugar (Cap. III, *c*): añadamos que en general solamente en las formas graves se ha encontrado un aumento de las combustiones, observándose por el contrario un ritmo metabólico normal en la mayoría de las formas leves o de mediana gravedad. Advirtamos que es característica de la diabetes la escasez, y en los casos graves la falta, de toda acción dinámica específica de los hidratos de carbono, especialmente en los azúcares y más particularmente de la glucosa; esta investigación, fácil de practicar actualmente con aparatos sencillos para el estudio de los cambios respiratorios, tiene un gran valor pronóstico y diagnóstico. Es interesante, según las investigaciones recientes de GRAFE (2), que los azúcares caramelados y las harinas tostadas tienen en el diabético una acción metabólica mucho más acentuada: aumentan sensiblemente los cambios gaseosos y elevan el C. R., generalmente bajo, como si fuesen mejor utilizados por el organismo que los productos naturales. Las proteínas tienen una acción dinámica específica normal, sólo reducida en los casos gravísimos.

Entre las modificaciones metabólicas que interesan al médico debemos citar también las que se obtienen con *estímulos cutáneos*: así, los baños calientes aceleran el metabolismo, y los fríos lo aceleran o

(1) GRAFE, *Deutsch. Arch. f. klin. Med.*, vol. CXXXIII, 1920.
(2) Obra citada.

lo retardan según la intensidad del estímulo cutáneo. Pero las investigaciones recientes hacen resaltar principalmente la importancia de la piel para la economía orgánica general: la piel es quizá un órgano de particular elaboración de todas las substancias biológicamente activas (antígenos, hormonas) que introducidas en ella revelan frecuentemente una efectividad mayor que cuando son introducidas *debajo* de ella. Vuelven a rehabilitarse, con MARAGLIANO, PONNDORF, BOEHME, (1) y SAHLI, los métodos de vacunación *intracutánea;* VOLLMER (2) encuentra que las hormonas obran más activamente por vía intracutánea que por vía subcutánea. Este último autor habría encontrado que la sola introducción de pequeñas cantidades de solución fisiológica *en la* piel (con formación de pequeñas ampollas) produce una modificación alcalótica del metabolismo, con disminución de Ca-iones, aumento de K-iones y fosfato-iones en el suero de la sangre y, por lo tanto, con un desplazamiento de la composición iónico-salina que favorece los procesos de combustión intraorgánica. La acción se ejercería por medio de estímulos que obrarían sobre el sistema nervioso vegetativo.

f) EL METABOLISMO EN LA FIEBRE.

Como ya hemos dicho en otro lugar, hay en los vertebrados superiores una constancia de la temperatura corpórea o *isotermia*, adquirida gracias a mecanismos termorreguladores que constituyen lo que se llama la *termorregulación física* (que rige esencialmente la *dispersión* calórica) y la que se llama *termorregulación química* (que preside esencialmente la *producción* de calor o termogénesis). En la primera nos encontramos con mecanismos *vasomotores* y *secretores* (y también respiratorios, porque la ventilación pulmonar es un medio de enfriamiento corpóreo, como lo demuestra la aparición de la llamada taquipnea térmica) regidos por varios centros medulares, de las protuberancias del bulbo y del hipotálamo; en la segunda se trata de modificaciones del metabolismo general, con excitación o apagamiento de las combustiones orgánicas, por lo cual aumenta o disminuye la termogénesis en todos los tejidos, pero especialmente en los órganos metabólicamente más activos, como los músculos y el hígado. Esta regulación de las combustiones intraorgánicas debería estar a cargo de un centro nervioso que — dice GRAFE — sería como la cremallera de la lámpara de petróleo, con la cual se alza o se baja la llama según las necesidades. Pero el asiento y existencia de este *centro metabólico general* es dudosa.

Por el contrario, son bien conocidos los centros que dominan de manera global *toda* la termorregulación, centros cuya lesión destruye la isotermia de la manera más completa, y cuya excitación altera el

(1) *Brauer's Beitr. z. Tuberk.*, vol. LIII, fasc. 4.°: *Deutsch. med. Woch.*, 1923, n.° 36.
(2) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XL, 1924.

nivel de la isotermia, produciendo una termorregulación ajustada a un nivel más alto, como en la fiebre; se trata de los centros de los cuerpos estriados descubiertos por Aronson y Sachs, cuya estimulación mecánica *(puntura térmica)* produce fiebre, y sobre todo del centro localizado por las investigaciones de Isenschmid y Krehl (1) y de Leschke (2) en el hipotálamo, en el *tuber cinereum*, en la vecindad inmediata de los numerosos centros de la vida vegetativa que se encuentran en el hipotálamo, que rigen el régimen hídrico, la distribución de la sangre, el consumo del azúcar, quizá también el de las proteínas y de las grasas y el metabolismo salino. El centro del *tuber cinereum* es al que actualmente se da mayor importancia como centro térmico principal; el de los cuerpos estriados está relacionado con éste, y los efectos de la puntura térmica de Aronson y Sachs son tal vez debidos a estímulos secundarios del centro hipotalámico.

El animal al cual se ha practicado una sección entre el mesencéfalo y el diencéfalo (entre los cuerpos cuadrigéminos y el tálamo) para separar el diencéfalo de la conexión con los centros inferiores, ha perdido todo poder de termorregulación (véase también más adelante). Por el contrario, las destrucciones de substancia encefálica frontalmente al diencéfalo no hacen desaparecer la termorregulación. Del centro hipotalámico deben partir las vías que van a los centros inferiores y de aquí a la periferia, y que proporcionan la inervación a los órganos productores de la termorregulación física (vasos, glándulas sudoríparas) y química (hígado, músculos, etc.). Según Meyer, el centro citado comprendería dos centros distintos: uno excitante de la termogénesis y limitante de la termodispersión en cuanto produce contracciones fibrilares de los músculos, aumento metabólico del hígado y vasoconstricción difusa, que es el llamado *centro del calor*; el otro, de acción antagonista, *centro del frío* o *centro termolítico* (Hashimoto) es excitante de la vasodilatación, de la frecuencia respiratoria y de la secreción sudoral; hay quien cree que las vías eferentes del primero van por el simpático y las vías eferentes del segundo por el parasimpático (vago), así como hay quien admite que existe un centro por decirlo así neutro, colocado más arriba (quizá en los cuerpos estriados). Normalmente debería predominar el centro (parasimpático) del frío, dotado de poder moderador sobre la termogénesis y sobre muchos fenómenos metabólicos que se desencadenarían como consecuencia de ciertas lesiones nerviosas experimentales (cortes separando el cerebro intermedio de las porciones subyacentes del neuro-eje) o por excitación anormal del centro (simpático) del calor (como en la fiebre). Pero esta distinción no está todavía bien comprobada. Lo cierto es que el centro hipotalámico fundamental está normalmente sujeto a dos clases de estímulos: los que le llegan por las vías nerviosas eferentes, procedentes de la periferia (las sensaciones de frío o de

(1) *Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol.*, vol. LXX, 1912.
(2) *Zeitschr. f. exper. Pathol.*, vol. XIV, 1913.

calor) y el estímulo que obra directamente en el mismo centro, representado por la temperatura de la sangre. Como han demostrado brillantemente Barbour (1) y Hashimoto (2), el estímulo *adecuado* para aquel centro es el frío, mientras que el calor obra en cierta manera como un narcótico: haciendo circular agua caliente por delgadísimos tubos en contacto con los centros térmicos, se obtiene una depresión de éstos, con descenso de la temperatura corpórea; por el contrario, haciendo circular agua fría, se obtienen excitaciones del centro, hay hipertermia y hasta verdadera fiebre que Barbour ha llamado *Kältefieber* o *fiebre del frío* (3). Está también admitido que las vías eferentes, las de la termorregulación química y las de la termorregulación física, durante un cierto trayecto transcurren juntas por el neuroeje, para separarse después: las investigaciones de Schönborn (4) y sobre todo las de Freund, Strassmann y Grafe (5) practicadas principalmente por el método de los cortes a diversas alturas, han demostrado que se puede abolir separadamente una u otra forma de termorregulación. Así, si en un conejo se corta la médula espinal al nivel de los primeros segmentos dorsales, el animal pierde la termorregulación física, porque en el tren posterior y en gran parte del tronco hay parálisis vascular, de la que deriva una dispersión térmica enorme, contra la cual, sin embargo, el animal lucha con algún éxito ya que consigue mantener la isotermia frente a temperaturas externas no muy bajas, conservando una amplitud de regulación de 9°-10°, en vez de los 25° normales (normalmente hay una isotermia perfecta, es decir, conservación de la temperatura corpórea constante a 38°, para oscilaciones de la temperatura exterior entre 6° y 31°). Esta posibilidad residual de regulación es debida a la conservación de la regulación química: el metabolismo general está notablemente elevado en tal caso, con una elevación proporcional del metabolismo proteico: en el conejo se observan aumentos de un 100 % en las combustiones; en el perro operado de la misma manera, de cerca del 50 % y algunas veces hasta del 100 %. Se trata de que se ha puesto a contribución la termorregulación química para compensar las enormes dispersiones térmicas.

El cuadro experimental por un corte un poco más elevado, al nivel de los últimos segmentos cervicales de la médula es completamente distinto: en tal caso las dos formas de termorregulación están abolidas y el animal se comporta como un heterotermo, presenta una temperatura corpórea superior solamente en un par de grados a la tem-

(1) *Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol.*, vol. LXX.
(2) *Id.*, vol. LXXVIII.
(3) Para detalles sobre los mecanismos termorreguladores y sobre la fiebre que no pueden ser desarrollados aquí, véanse los siguientes trabajos: Barbour, *Heat regulating mechanism of the body (Physiol. Reviews*, I, n.° 2, 1919): Freund, *Ueber Wärmeregulation u. Fieber (Ergebn. d. inn. Med. und Kinderheilk*, vol. XXII, 1922): Grévng, en *Deutsche med. Woch.*, 1922, n.° 50 y 51.
(4) *Zeitschr. f. Biol.*, vol. LXXVI.
(5) *Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol.*, vol. LXIX, LXX, XCIII: *Pflüger's Arch.*, vol. CLXVIII.

peratura ambiente y muere con hipotermia si la temperatura del medio desciende por debajo de 34°-35°. El animal está en iguales condiciones que aquel al cual se ha lesionado el *tuber cinereum* (ISENSCHMID y KREHL). El animal cuya médula cervical ha sido cortada, ha perdido la termorregulación química, no reacciona con un aumento metabólico general a la amenaza de la hipotermia y *no tiene ni siquiera la capacidad de reacción febril* por la acción de los agentes febrígenos comunes (venenos bacterianos, varias substancias químicas, cloruro de sodio); como faltan los poderes contrarreguladores, los estímulos metabólicos, tales como la alimentación y el trabajo muscular, ejercen su influencia de una manera clara y con repercusiones en el aumento de la temperatura corpórea que no se notan en el animal que todavía está termorregulado. Pero en este caso es particularmente interesante el metabolismo proteico: mientras que, si estos animales se mantienen en buenas condiciones de ambiente y a temperatura exterior apropiada, las combustiones en general no están aumentadas o lo están poco, la desintegración proteica es enorme; hay una discordancia, que falta en los animales con la médula dorsal seccionada, entre el metabolismo general y el metabolismo proteico, tanto que GRAFE fué inducido a pensar que el corte cervical produce la interrupción de vías especiales destinadas a frenar las escisiones proteicas en los órganos periféricos, quizá a moderar el consumo de las reservas de proteínas que sabemos que existen en el hígado (Cap. V, *a*). Los impulsos centrales normales deben ser de naturaleza inhibidora del metabolismo proteico (GRAFE); su supresión debe conducir a destrucciones proteicas elevadas. Entre los últimos segmentos cervicales y los primeros dorsales de la médula debe tener lugar, por lo tanto, una separación entre las vías eferentes de la termorregulación física y las de la termorregulación química, que evidentemente salen de la médula y, por los últimos ramos comunicantes cervicales, pasan probablemente al simpático.

Está demostrado que la sección de la médula dorsal practicada junto con la sección del vago por debajo del diafragma, anula la termorregulación química; por lo tanto, el vago contiene ciertas fibras importantes para esta función, siendo probable que las más importantes de ellas sean las que van al hígado.

La regulación química tiene más importancia en los animales pequeños que en el hombre, en el cual una gran parte de las necesidades de la termorregulación, especialmente respecto al calor exterior, está bien cubierta por la sola termorregulación física, entrando solamente en funciones la química (que hasta algunos niegan en el hombre) para modificaciones extremas de la temperatura corpórea: el metabolismo, por lo menos en la porción que tiene más importancia para la termogénesis que es el de muchos órganos de inervación vegetativa (tampoco se exceptúan los músculos, que tienen inervación simpática), está bien protegido por una regulación física bien efectiva contra las frecuentes y bruscas oscilaciones, a fin de poder satisfacer en todo

momento las imprescindibles exigencias de la isotermia (véase también pág. 478).

No hemos de olvidar el siguiente hecho: las vías eferentes de la termorregulación no son solamente las citadas, que se dirigen directamente desde los centros a los órganos activos, glandulares, etc., sino que existe otra vía que pasa a través de los órganos endocrinos. Parece que éstos tienen importancia, diversamente apreciada sin embargo, en el mecanismo de la termorregulación (especialmente química): en este caso alguna de las vías nerviosas (nervios secretores de las glándulas endocrinas) se interrumpiría en dichos órganos y de ellos partirían impulsos metabólicos de naturaleza química. Esta concepción se ha aplicado principalmente al tiroides: el centro térmico debería regular la termogénesis, no directa sino indirectamente, poniendo en circulación una cantidad mayor o menor de hormonas tiroideas, las cuales, a su vez, excitarían más o menos las combustiones orgánicas. Las investigaciones de ADLER sobre la invernación y las de MANSFELD sobre la presencia de *hormonas tiroideas termógenas* y *refrigerantes* en la sangre de animales respectivamente enfriados o calentados, han sido las que han dado crédito a esta teoría de la posición central del tiroides en la termorregulación. Pero el hecho de que los animales tiroidectomizados puedan presentar fiebre y posean aún intacta o casi intacta la termorregulación química, va en contra de la necesidad imprescindible de esta glándula para la regulación térmica (y la fiebre). También tiene importancia el lóbulo anterior de la hipófisis, que quizá es excitante de la termogénesis (los animales hipofisectomizados presentan hipotermia). Seguramente también tiene importancia la cápsula suprarrenal, porque conocemos la acción hipertermizante de la adrenalina y además sabemos que los animales a los que se han extirpado las cápsulas suprarrenales son hipotérmicos y no reaccionan con fiebre a la punción cerebral de ARONSON y SACHS, pero basta el injerto de una pequeña porción de suprarrenal para restituirles la capacidad de reacción febril. De todas maneras, las glándulas endocrinas, aun teniendo importancia como reguladoras del metabolismo, no son probablemente órganos necesarios para la termorregulación, sino mejor centros subsidiarios. La termorregulación forma parte esencial de la correlación nerviosa, aun cuando engrane también, como es natural, con la humoral.

El problema bioquímico de la fiebre y de todas las oscilaciones térmicas se hace más claro después de estas nociones.

La *fiebre* debe ser definida como un efecto de la excitación directa o de una mayor excitabilidad del centro térmico. De este modo se excluiría de la fiebre verdadera las hipertermias debidas a la simple insuficiencia de la termorregulación física, a un impedimento a la dispersión del calor, a una *estasis de calor*, como puede suceder por exceso de temperatura ambiente, especialmente si están dificultados los mecanismos refrigerantes normales (por ejemplo la sudoración, si el ambiente está muy saturado de vapor de agua). En la verdadera fiebre

debe haber una *adaptación a un nivel más alto de la termorregulación*, y tanto la regulación química como la física cooperan en este sentido, aun cuando en grado y medida diversos. Las oscilaciones térmicas debidas a disfunción endocrina tampoco deberían ser consideradas como fiebre, si entendemos por fiebre la hipertermia de acción central, a no ser que el trastorno endocrino sea debido a su vez a influencias nerviosas, trasmitidas desde los centros por los nervios secretores.

Por el contrario las siguientes hipertermias, que tienen el carácter de verdadera fiebre, son debidas a una acción verdaderamente central. Hemos de considerar, en primer lugar, las producidas por *estímulos mecánicos* sobre el centro térmico, por traumatismos cerebrales (cuyo caso más típico es el del experimento de la puntura térmica); por hemorragias del tercer ventrículo aun cuando en este caso además de la acción mecánica de la sangre extravasada, podría haber el efecto químico de sus productos de autolisis aséptica; en los tumores cerebrales; en la hidrocefalia y también la hipertermia por inyección de mercurio en el infundíbulo, como en el experimento de JACOBY y ROEMER. Tenemos, además, las motivadas por *estímulos químicos o químico-físicos* sobre el centro térmico, que constituyen la mayor parte de las formas de fiebre. Los agentes de esta naturaleza, como supone HASHIMOTO, pueden modificar la excitabilidad del centro citado frente a los estímulos normales (los nerviosos aferentes y los térmicos) por poseer una especie de función batmótropa; o bien pueden ser ellos mismos excitantes directos para el centro, y, si se admite una diferenciación entre un centro del calor y un centro del frío, para el uno o para el otro. Así, la antipirina disminuiría la excitabilidad del centro y por este mecanismo sería antitérmica, mientras que el cloruro de sodio produciría según algunos un aumento de la excitabilidad del centro térmico y por este mecanismo determinaría la conocida *fiebre de la sal.*

Son excitantes directos para el centro, la cocaína, la atropina, la adrenalina, la β-tetrahidronaftilamina (Parte I); la pilocarpina sería un paralizador directo o, si se admite un centro del frío, un excitante de éste.

Pero de todos modos, dejando aparte esta distinción un poco incierta entre modificadores de la excitabilidad y excitantes directos, podemos enumerar varios de estos agentes químicos y químico-físicos: las substancias ya citadas, de composición química bien definida, producen una fiebre más o menos típica, y entre éstas el veneno febrígeno más interesante y poderoso es la β-tetrahidronaftilamina: basta inyectar a un conejo 1 cc. de una solución al 5 % de clorhidrato de esta base, para producir una fiebre con temperatura hasta de 44° y muerte rápida del animal, si no se tiene cuidado de someterlo a baños fríos. CITRON y LESCHKE han observado (1) que la acción febrígena de esta base no se obtiene en los animales cuyos centros nerviosos han sido seccionados entre el cerebro medio y el intermedio, por lo tanto con exclusión del centro térmico de las conexiones periféricas. En cuanto a la *fiebre de la sal*, que se obtiene en los conejos y en los niños con inyecciones parenterales de solución de cloruro sódico, existen varias interpretaciones: algunos autores la niegan y la atribuyen a impurezas orgánicas, y especialmente bacterias, de la solución inyectada. En realidad, parece que los Na-iones, aumentan la excitabilidad del centro térmico, lo cual no tiene nada de extraordinario, porque estos iones aumentan la excitabilidad de otros substratos excitables; la inyección simultánea de sales de Ca inhibe la fiebre de la sal, por efecto del conocido antagonismo iónico y de la acción sedante que tienen los Ca-iones sobre el tejido neuro-muscular. En los niños, la administración oral de NaCl o de azúcar puede también dar fiebre. Las fiebres que se obtienen con la inyección de metales coloidales, de suspensiones finísimas (de carbón, almidón) o de parafina, son de mecanismo químico-físico: parece que el centro es sensible al estado químico-físico de la sangre. LEHMANN (1) ha descrito una *fiebre de los que trabajan el latón* que parece debida a la inhalación o a la penetración en las vías circulatorias de partículas de metal o de óxidos metálicos. La llamada *fiebre anafiláctica*, tal como se presenta en los animales sensibilizados para un antígeno por la reinyección de pequeñas dosis del mismo antígeno, debe colocarse entre las formas de estimulación central por parte del estado físico del plasma si nos atenemos a la teoría física de la anafilaxia, y podría compararse con la fiebre por inyección de suspensiones o de substancias coloidales; mientras que debería aproximarse a las formas por agentes puramente químicos y precisamente por los productos de escisión proteica, si se adopta la concepción química de la anafilaxia.

Llegamos así al grupo más importante de los agentes químicos febrígenos que hemos dejado para el final porque merece algunas consideraciones especiales: los productos de *escisión proteica.* No debe sorprendernos que los productos de escisión proteica exciten el centro térmico, o mejor, que *aumenten la excitabilidad* de este centro: en efecto, hemos dicho ya en otro lugar que son verdaderos activadores del metabolismo y son capaces de aumentar la excitabilidad de muchas células. El centro térmico no hace excepción a esta ley; únicamente responde a esta acción de los productos desintegrativos proteicos por medio de manifestaciones que corresponden a su peculiar y delicada función. Nótese que este centro, según las investigaciones de PENTIMALLI (2), no se habitúa, no se inmuniza contra el estímulo proteico, sino que responde siempre y constantemente de una manera igual a las acciones repetidas de esta naturaleza. Las fiebres asépticas y de reabsorción, las fiebres infecciosas, que forman en la práctica el mayor número de fiebres, se incluyen en las fiebres de acción central por pro-

(1) *Zeitschr. f. exper. Pathol.*, vol. XIV.

(1) *Arch. f. Hyg.*, vol. LXXII.
(2) *Arch. di Scienze biol.*, vol. II, n.° 1 y 2.

ductos de escisión proteica y son una manifestación de la llamada *intoxicación proteica*, y por lo tanto de la *digestión parenteral de las proteínas*. Los productos de autolisis aséptica de los tejidos, como los productos bacterianos y los que se forman en los tejidos por la acción de las bacterias, substancias del tipo de albumosas, peptonas, polipéptidos en general y aminobases, son los agentes febricitantes más comunes. Hay una conexión entre estos agentes bacterianos y celulares más o menos complejos, y genéricamente designados con el nombre de productos de escisión proteica, y los químicamente bien definidos y citados hace poco: varios de estos últimos no son más que aminas proteinógenas, y no tiene nada de extraño que en el organismo se formen cuerpos semejantes cuando son reabsorbidos los tejidos muertos (hematomas, focos traumáticos asépticos, etc.) o cuando en ellos viven bacterias que descomponen las proteínas de los tejidos y lanzan a la circulación las propias exo- o endo-toxinas, que no son más que cuerpos de tipo proteico o derivados proteicos. La antigua teoría de KREHL y MATTHES sobre la naturaleza de albumosas y peptonas propia de los venenos febrígenos, vuelve a rehabilitarse con las debidas modificaciones: la fiebre ingresa en el vasto, y aun no del todo explorado, capítulo de las intoxicaciones por productos de escisión proteica. Todas las proteínas, tejidos del cuerpo, parásitos, etc. cuando penetran en el medio orgánico interno y son escindidas en él por las distintas acciones enzimáticas pueden ser febrígenas. También los productos de una digestión intestinal incompleta, si son absorbidos a causa de lesiones de la mucosa intestinal, pueden producir fiebre: los pediatras especialmente, conocen la llamada *fiebre alimenticia*.

Adviértase que, más que las bacterias vivas, son quizá las bacterias muertas por las fuerzas orgánicas bactericidas, las que producen la fiebre: probablemente se trata muchas veces de venenos derivados de los cadáveres bacterianos más o menos disueltos en los líquidos orgánicos. En las enfermedades protozoarias vemos generalmente que los accesos febriles aparecen en correspondencia con las fases de multiplicación de los protozoos, cuando muchos parásitos son lanzados a la sangre, en donde un buen número sufre la acción desintegrativa. Los experimentos de la escuela de FRIEDBERGER sobre las llamadas *anafilotoxinas* documentarían esta relación entre la fiebre y las acciones recíprocas de los microorganismos con los líquidos orgánicos, si bien hoy hay una mayor tendencia a interpretar de otra manera la adquisición de propiedades tóxicas por parte de los sueros a causa del tratamiento *in vitro* con antígenos, abandonando la idea de la digestión parcial del antígeno, sostenida por FRIEDBERGER. Las fiebres infecciosas son también imposibles cuando el centro hipotalámico está lesionado o si se ha suprimido de algún modo la regulación química (sección diencéfalo-mesencefálica, sección cervical, etc.).

Después de todo lo dicho, se comprende cómo actualmente ha sido terminada la antigua discusión de si en la fiebre había un aumento de la producción de calor (LIEBERMEISTER) o una disminución de la

dispersión de éste (SENATOR): en la fiebre hay un desplazamiento del punto de acomodación de la termorregulación, obtenido por aumento de la termogénesis *y* por disminución de la termodispersión, interviniendo más o menos uno u otro factor según los casos. Según la opinión actualmente más difundida, en todas las verdaderas fiebres, con excepción de la producida por la anafilotoxina según LESCHKE y HIRSCH (1), hay un aumento del metabolismo y de la producción de calor, tanto si se trata de fiebres experimentales como si se trata de fiebre natural del hombre; las numerosas investigaciones respiratorias y calorimétricas lo demuestran de una manera concordante. Las cuidadosas investigaciones de PIZZINI (2) han puesto en evidencia que en la fiebre está también aumentada la combustión de substancias fácilmente oxidables, introducidas experimentalmente (ácidos oxálico, tartárico, etc.).

Los aumentos de las combustiones están más acentuados en las formas agudas, en las fiebres altas, y llegan entonces al 50-60 %; son menos acentuados en las formas febriles crónicas, pero no faltan nunca si se compara el enfermo, no precisamente con el hombre sano, sino con invididuos igualmente desnutridos, o con él mismo después de desaparecida la fiebre y en la convalecencia, porque es un hecho que, cuando se prolonga la enfermedad con la frecuente desnutrición consecutiva, el organismo febricitante se coloca en un plan de economía, que puede enmascarar en gran parte el aumento metabólico febril. Se comprende que, además, pueden haber retardos metabólicos verdaderos en los períodos terminales y preagónicos de una enfermedad infecciosa.

No es bien seguro que exista paralelismo entre el aumento de las combustiones y la elevación de la temperatura; es cierto que hay formas infecciosas con elevación del metabolismo del 20-30 % y hasta apiréticas, como se observa algunas veces en la tuberculosis (GRAFE); pero en este caso se trata de agentes tóxicos con punto de actuación periférico, en los órganos, sin repercusión sobre el centro térmico, que, por el contrario, puede existir en otras formas de la misma enfermedad. Esta observación, como otras derivadas de la patología experimental, nos inducen a una cierta reserva respecto a la concepción unitaria y simplista de los venenos de todas las bacterias, actualmente sostenida por algunos, porque esto nos haría pensar en la producción de venenos bastante diversos por parte de las mismas bacterias. Si consideramos las fiebres más típicas (tifoidea, pulmonía), encontraremos muchas veces cierto paralelismo entre la excitación metabólica y la temperatura corporal; además, las cuidadosas investigaciones de DU BOIS (3) pondrían en evidencia la posibilidad de aplicar con una aproximación discreta la *ley de* VAN'T HOFF (pág. 479); según estos tra-

(1) *Zeitschr. f. exper. Pathol.*, vol. XV.
(2) *Sui poteri ossidativi dell'organismo.* Trinchera, Nápoles.
(3) *Journ. of amer. med. Assoc.*, vol. LXXVII, 1921.

bajos, en el 82 % de los casos observados, la aceleración metabólica era, en los límites de temperatura entre 37° y 41°, no muy distinta de la que exigiría la ley de VAN'T HOFF. También PIZZINI, en las experiencias ya citadas sobre las combustiones en la fiebre, encuentra comprobada la ley citada, siempre que no intervengan causas perturbadoras que agraven el proceso morboso; solamente se exceptuaría, según este autor, la combustión de los hidratos de carbono, porque necesita la intervención de muchas y complejas acciones fermentativas. Ya hemos dicho, en su lugar correspondiente, que la aplicación precisa de esta ley es muy discutible para muchos fenómenos biológicos relativamente sencillos, a causa de la íntima cooperación de procesos químicos y físicos, y es de suponer que todavía es más problemática su aplicación al metabolismo general.

Las causas de la excitación metabólica febril son varias: la misma elevación de la temperatura corporal es un factor que acelera la velocidad de muchas reacciones orgánicas, y, en realidad, por experiencias directas hechas hipercalentando animales, resulta que, por cada grado de aumento de la temperatura corpórea, los cambios gaseosos aumentan un 6 %. Tenemos, además, el efecto del aumento de trabajo en varios órganos: corazón, aparato respiratorio, glándulas sudoríparas, músculos estriados (temblor, que en los niños llega algunas veces a verdaderas convulsiones). Finalmente, tenemos un factor diversamente apreciado, el *factor tóxico*, en los tipos más comunes de fiebres originadas por productos de escisión proteica, como son las fiebres infecciosas: sabemos ya que muchos de estos cuerpos excitan las células a producir nuevas escisiones, como lo vemos en todas las inyecciones parenterales de proteínas, seguidas siempre de una eliminación de nitrógeno superior a la que corresponde a la proteína inyectada (Sección II, Cap. V, pág. 442). Muchas fiebres van acompañadas de extensos procesos inflamatorios en los cuales hay una exaltación metabólica acentuada: también esta influencia del foco local puede repercutir en el metabolismo global del organismo.

El C. R. no se modifica mucho por la fiebre; por el contrario, hay frecuentemente valores bajos, porque una buena parte del aumento metabólico se hace a expensas de las grasas, como en el ayuno, con el cual va frecuentemente asociada la fiebre. El consumo de hidratos de carbono en la fiebre tiene lugar muy pronto, por lo cual se agotan rápidamente los depósitos de glucógeno, así como la combustión de las reservas de hidratos de carbono del hígado y de los músculos es una de las causas principales del aumento inicial de la termogénesis.

En efecto, *el hígado es el órgano en que más aumenta la temperatura.* Agotados los depósitos de glucógeno, se explica aun mejor el extenso ataque de las grasas (y de las proteínas, como veremos pronto), y se explica porque la combustión de las grasas presenta la conocida anomalía de la abundante formación de cuerpos cetónicos. En efecto, en la fiebre hay frecuentemente acidosis y acetonemia, facilitada por la hiponutrición, a veces bastante considerable, pero siempre inferior a

la diabética. En la diabetes, en la cual ya están empobrecidos los depósitos de glucógeno, la aparición de la fiebre es más difícil, pero cuando aparece, aumenta el peligro de la acidosis. No está bien demostrado si la cetosis febril es debida entera y solamente a la deficiencia de hidratos de carbono, consumidos precozmente, y a la hiponutrición, o bien si también influye en ella un factor tóxico directamente alterante de las cadenas de los ácidos grasos. Es de aconsejar la administración al febricitante de hidratos de carbono, así como de alcalinos, para combatir la acetonemia, pero no parece que se consiga siempre eliminarla, quizá por la intervención de factores tóxicos.

Es notable que el glucógeno muscular, al contrario del hepático, a veces aumenta: esto demuestra que hay una movilización y una nueva distribución de las reservas de hidratos de carbono; en correspondencia aumenta frecuentemente el azúcar de la sangre.

Pero más que el metabolismo de las grasas y de los hidratos de carbono está modificado en la fiebre el proteico; es característico el aumento del metabolismo proteico, que con frecuencia sobrepasa la proporcionalidad con el aumento general del metabolismo. En efecto, en las fiebres altas el metabolismo proteico puede llegar a representar un 25 % del metabolismo general, en vez del 15-18 % normal.

La eliminación del N aumenta de un 50-120 % por sobre de lo normal (aumento del 75 % por término medio); no siempre está en relación con el aumento térmico, sino mejor con la gravedad de la infección, y puede existir ya en el período prodrómico de la fiebre. En las fiebres prolongadas, la eliminación nitrogenada puede reducirse por la tendencia que entonces presenta el organismo, como en el ayuno, a la economía del precioso material proteico. Las causas de esta fusión proteica en la fiebre son múltiples: una puede estar constituída por la hiponutrición, a la cual están sometidos muchos febricitantes y que muchos médicos modernos, venciendo antiguos prejuicios, intentan actualmente eliminar, habiéndose observado que muchas fiebres infecciosas son mejor soportadas si el enfermo está bien alimentado. Otro factor relacionado con el precedente es la rápida desaparición del glucógeno, especialmente del hepático, que alguien compara con la que se observa en el envenenamiento por el fósforo. Tenemos, además, el factor de la hipertermia, diversamente apreciado; en las experiencias hechas hipercalentando animales se han observado a veces, especialmente en los grados extremos de calentamiento, aumentos de las escisiones proteicas, pero no parece que exista ninguna constancia en su valor. Otro factor puede estar constituído por los trastornos de la innervación que acompañan a las alteraciones febriles de la termorregulación: ya hemos hecho notar (pág. 716) el enorme aumento de las escisiones proteicas que se observa cuando está alterada (en este caso, hasta *abolida)* la termorregulación química por sección de la médula cervical; según GRAFE, pueden existir análogas correlaciones en la fiebre. Finalmente, debe tenerse en cuenta el factor tóxico, es decir, la acción desintegrativa directa de los venenos febrígenos sobre el pro-

toplasma, en el sentido ya indicado hace poco al hablar de la excitación metabólica en general. GRAFE se inclina a dar poca importancia a estos factores tóxicos, pero hay datos anatómicos irrecusables que demuestran que tienen una gran intervención en las fiebres graves y elevadas: tales son las degeneraciones celulares, los focos miliares de necrosis en varios órganos y las lesiones de las paredes vasculares, que corresponden a fenómenos de desintegración del protoplasma más o menos acentuados.

También se observan modificaciones cualitativas en el metabolismo proteico: se reduce la cantidad de NH_3 utilizada para la ureogénesis y, por lo tanto, proporcionalmente a la eliminación total de N, disminuye la eliminación urinaria de urea y aumenta la de amoníaco, lo cual está en relación con la acidosis. Puede decirse que en la fiebre aumenta siempre el N total urinario; pero la urea no representa un 80 % del mismo como en condiciones normales, sino una cantidad menor, al mismo tiempo que se nota el crecimiento de las fracciones correspondientes al NH_3 al ácido úrico, a los aminoácidos y ácidos oxiproteínicos (aumento del urocromo: orinas hipercoloreadas; *reacción de* WEISS y *diazorreacción de* EHRLICH, véase Sección IV) y a la creatinina.

El ácido úrico y las bases púricas están aumentados, especialmente si hay leucocitos con intensa destrucción leucocitaria, o formación y reabsorción de exudados ricos en leucocitos. El aumento de la destrucción proteica produce también un aumento del azufre urinario (sulfatos y azufre neutro).

Los distintos estímulos ordinarios del metabolismo tienen en la fiebre una acción no muy diferente de la que poseen en condiciones ordinarias; parece que la acción dinámica específica está más pronto reducida, respecto a lo normal.

En el febricitante hay tendencia a la retención de agua (oliguria, orina de gran densidad, etc.) que cesa con la convalecencia (poliuria de los convalecientes); quizá la intensificación de los fenómenos catabólicos, con la formación de moléculas numerosas y más pequeñas, es causa de que se fije el agua con mayor tenacidad, por aumentar el poder de imbibición de los coloides o tal vez por razones puramente osmóticas. Hay también una tendencia a la retención de NaCl en los tejidos, especialmente durante la pneumonía y en las afecciones exantemáticas, mientras que en la convalecencia hay una descarga urinaria de esta sal. Por el contrario, en la sangre no está aumentado el NaCl, sino algo disminuído, así como no es raro un ligero descenso de la concentración molecular del suero ($\Delta = -0{,}54°$).

Las sales de K y los fosfatos son eliminados abundantemente en la fiebre, al contrario de lo que pasa con el NaCl, tanto que se supone que la retención de NaCl debe servir para compensar osmóticamente las pérdidas de estas otras sales. Estas pérdidas de K y de P dependen de la destrucción celular, siendo los tejidos más ricos en potasio y fósforo que los líquidos circulantes.

SECCIÓN IV

LA SECRECIÓN URINARIA

CAPÍTULO I

La función renal

El riñón extrae de la sangre agua y varios cuerpos disueltos, que son en gran parte cristaloides (electrólitos y no electrólitos) y que representan esencialmente productos catabólicos nitrogenados y sales. Mientras que una buena porción de los productos terminales del metabolismo de las grasas y de los hidratos de carbono (CO_2, H_2O) abandonan el cuerpo también, o exclusivamente, por otras vías (así el CO_2, por el pulmón), los términos del metabolismo nitrogenado y los constituyentes minerales encuentran su principal vía de eliminación por el emunctorio renal. Solamente el Fe y el Ca, entre estos últimos, son principalmente eliminados por el intestino.

Para fabricar la orina a expensas de la sangre, el riñón debe realizar un intenso trabajo, de lo cual es prueba el gran consumo de O_2 de este órgano: se trata esencialmente de un *trabajo de concentración*, porque la orina generalmente tiene una composición molecular muy *distinta*, rara vez más baja, generalmente más elevada que la sangre (Sección II, Cap. VI, *a*), y el riñón debe trabajar *contra* las leyes osmóticas, recogiendo en el sistema tubular varios cuerpos que, como la urea, alcanzan a veces en dicho punto concentraciones 40-50 veces mayores que en la sangre. GALEOTTI ha calculado matemáticamente el trabajo osmótico del riñón (1), y ha establecido una fórmula que, sin embargo, da solamente el valor *mínimo* de este trabajo.

GALEOTTI advierte que el trabajo realizado por el riñón depende de la disponibilidad de agua: para eliminar el mismo número de moléculas, el trabajo renal es menor si el riñón puede disponer de mucha agua y producir una orina muy diluída; mientras que el trabajo au-

(1) *Arch. f. Anat. u. Physiol., Phys. Abt.*, 1902, pág. 200.

menta y el riñón debe trabajar con gran dispendio de energía si escasea el agua. Para eliminar 1 gr. de NaCl, el trabajo del riñón es de:

Kgr. metros	0,64	si la eliminación se hace con	90	cc. de agua
»	0,90	»	»	65	»	»
»	2,29	»	»	52	»	»
»	7,70	»	»	26	»	»
»	10,14	»	»	20	»	»

Esta es la demostración, en cifras exactas, de la exactitud del precepto práctico de proporcionar agua abundante al riñón para no fatigarlo (por ejemplo, dar de beber abundantemente a los febricitantes, etc.).

Puede también añadirse que para proporcionar una orina más concentrada ($\Delta = -3{,}5°$ y más) el riñón debe vencer una presión de 40 atmósferas, y para proporcionar una orina lo más diluída posible ($\Delta = -0{,}07°$), el riñón debe vencer en el sentido opuesto (porque entonces la solución más concentrada es la sangre) una presión que puede calcularse en unas 6 atmósferas. Por lo tanto, y como regla general, el trabajo de concentración verdadero y positivo, el que realiza el riñón en la mayoría de casos, en los cuales la orina es hipertónica respecto a la sangre, es muy superior al de dilución que el riñón ejecuta en casos, no frecuentes, en los cuales la orina es hipotónica.

El riñón enfermo ha perdido más o menos esta capacidad de trabajo de concentración y de dilución, y elimina la orina a concentración (y peso específico) bastante constante, porque no puede traducir las oscilaciones en el aporte de agua y de substancias sólidas en oscilaciones de la concentración urinaria *(hipostenuria renal)*. El riñón enfermo se amolda aproximadamente a una cierta concentración constante de la orina (generalmente baja, como vemos en las esclerosis renales), y si debe eliminar mayor cantidad de materiales sólidos no puede hacerlo más que eliminando agua a costa de deshidratar la sangre y los tejidos : he aquí el origen de ciertas poliurias por insuficiencia renal.

En el Capítulo VI, *a*, de la Sección II, hemos hablado ya de las pruebas clínicas que sirven para demostrar el poder de concentración y de dilución del riñón, que está íntimamente relacionado con la función osmorreguladora de este órgano. La hipostenuria o *debilidad osmótica del rinón* es uno de los síntomas más preciosos de la patología renal.

Koranyi (1) ha establecido el concepto de la *diuresis molecular*, utilizando precisamente el valor del Δ urinario. Si $\frac{\Delta}{1{,}85}$ expresa el número de moléculas disueltas en un litro de un líquido (disociadas o no), $\frac{\Delta \cdot V}{1{,}85}$ expresará, siendo V el volumen de la orina de 24 horas,

(1) Koranyi y Richter, *Physik. Chem. u. Medic. Thieme*, Leipzig.

el número de moléculas eliminadas por el riñón en aquel tiempo. Este valor o diuresis molecular es normalmente de 0,8-1,7, variando en relación con el postulado de la constancia del medio orgánico interno. Depende, naturalmente, de la alimentación y desciende por debajo de 0,8 hasta en el sano, si el régimen es limitado. En las afecciones renales (teniendo siempre en cuenta la alimentación) desciende *(oligomoluria)* en proporción aproximada a la gravedad de la enfermedad; también su *fijeza* e *independencia del régimen* es un signo de insuficiencia renal.

No podemos entrar en detalles acerca de las numerosas cuestiones referentes al mecanismo íntimo de la secreción renal, tanto más cuanto que aun no hay acuerdo entre los fisiólogos ; son bastante conocidas las dos orientaciones doctrinales, de Ludwig y de Bowman. Nos limitaremos a citar la concepción más moderna, desarrollada por Cushny (1) y adoptada por Bayliss (2). Según esta teoría, el glomérulo es un filtro que deja pasar todos los *constituyentes no coloidales de la sangre;* podría, pues, compararse con un *ultrafiltro*, que retiene los coloides, especialmente las proteínas, es decir, los de partículas mayores, y deja pasar los cristaloides con el agua. La comparación con el ultrafiltro nos parece que es tanto más oportuna cuanto que ordinariamente no hay una retención absoluta de *todos* los coloides del plasma y pasan substancias de moléculas bastante grandes, de carácter coloidal, como la fracción *adializable* de ciertos autores, ácidos oxiproteínicos, etc.: la pared de las vías vasculares del glomérulo, reforzada por la hojilla visceral de la cápsula de Bowman, tiene, por lo tanto, cierto poder selectivo respecto a varios coloides, de los cuales, sin embargo, es un hecho que la inmensa mayoría son retenidos, como por un ultrafiltro para coloides que presente poros muy pequeños. En los vertebrados inferiores, de vida acuática, puede decirse que así queda satisfecha la necesidad de eliminación urinaria y se hace más fácil la función del riñón : no faltan agua y sales en el medio ambiente, y el filtro renal los expulsa sin economizarlos en la cantidad necesaria para arrastrar las substancias catabólicas, escorias o desechos nitrogenados, cuya eliminación del medio orgánico interno es el fin principal de la función renal. En los vertebrados superiores de vida terrestre, por el contrario, es necesaria la adición de un mecanismo que permita la eliminación de los términos nitrogenados del metabolismo con la mayor economía posible de agua y sales, que no pueden ser derrochados demasiado generosamente : he aquí la necesidad de la función tubular, que debe consistir en la reabsorción de agua y de ciertos constituyentes disueltos en el filtrado glomerular que el organismo debe ahorrar, o bien en la excreción selectiva adicional (a lo largo de los tubos y por la acción de las células de éstos) de substancias catabolizadas o de desecho, de las que el organismo debe desembarazarse. Según Cushny, la primera suposición es cierta : el filtrado glomerular, que es plasma

(1) *The secretion of urine*. Longmans, Londres, 1917.
(2) *Principles of gener. Physiol.* Longmans, Londres, 1920.

sanguíneo privado de coloides, es sucesivamente concentrado en el sistema tubular, porque por el trabajo activo de las células tubulares son extraídos para ser devueltos a la sangre, *agua*, ciertas *sales* más necesarias para el organismo, *glucosa*, *aminoácidos*, que son útiles también como materiales nutritivos; las sales serían reabsorbidas en las mismas proporciones que sabemos que existen en el plasma y en el líquido de RINGER. Por el contrario, no son del todo reabsorbidas las substancias de carácter inútil o perjudicial para el organismo, como la urea y los otros productos catabólicos nitrogenados; el exceso de sales (NaCl, fosfatos monometálicos, etc.) más allá de lo necesario para la isotonía e isionía del plasma; substancias extrañas y venenos que han llegado al plasma y de los cuales éste debe desembarazarse, etc. Según esta concepción, las células de los tubos tienen muy desarrollada la propiedad de sustraer al filtrado glomerular para devolverlo a la sangre un líquido que — como dice BAYLISS — corresponde a la parte útil de la sangre privada de coloides (cuya reabsorción normal no existe porque no han sido filtrados por el glomérulo). CUSHNY llama *substancias con límite* aquellas que son devueltas a la sangre (azúcares, aminoácidos en parte), y *substancias sin límite* las que quedan en los tubuli y escapan por el uréter; en efecto, las primeras son siempre más o menos reabsorbidas por la sangre, si no sobrepasan cierta concentración, y sólo cuando en la sangre hay un exceso de estas substancias, y, por lo tanto, el filtrado renal contiene a su vez un exceso, la reabsorción es incompleta o nula, y cierta proporción de ellas es entonces eliminada. Por el contrario, las segundas son siempre eliminadas, nunca reabsorbidas, hasta llegar a un cierto nivel: tal sucede con la urea. Según CUSHNY, por lo tanto, se niega toda función secretora de las células de los tubuli, hasta para los productos catabólicos como la urea.

Todo lo que elimina el riñón debe pasar por el glomérulo; por las paredes de los tubuli pasaría solamente lo que el riñón no elimina, sino que se reabsorbe y vuelve a la sangre. Las células tubulares no harían más que tomar substancias disueltas y agua de la luz de los tubuli para devolverlos a la sangre. La secreción activa de urea y otros productos urinarios por parte de las células de los canalículos, admitida por BOWMAN y que tantos experimentos (como los de eliminación de substancias colorantes) parecían confirmar, sería terminantemente negada. Sin embargo, es cierto que para llegar de la concentración de urea de la sangre y del filtrado glomerular a la de la orina, si no se admite una secreción activa de urea por los tubuli, debería admitirse una enorme reabsorción de agua: por lo menos de 28 litros de agua a partir de 30 de filtrado, según BAYLISS. Por el contrario, admitiendo *también* un trabajo secretorio para la urea y otros productos catabólicos por parte de las células tubulares, no habría necesidad de admitir esta enorme corriente de agua de la sangre al túbulo y viceversa y el gran gasto de energía que sería necesario para activar esta corriente hídrica.

Se ve, pues, que la negación radical de la función verdaderamente secretora de las células tubulares es el punto más discutible de la teoría de CUSHNY. También las investigaciones microquímicas serían favorables a la eliminación de urea por las paredes tubulares (1). Es cierto, además, que el largo tubo renal presenta diferenciaciones morfológicas, y, por lo tanto, también seguramente funcionales, a lo largo de su recorrido; nada mejor que las extensas investigaciones de SUZUKI efectuadas con la coloración vital por el carmín (2) para demostrar la diferenciación funcional del tubo renal: es cierto que los tubos contorneados de primer orden *(Hauptstücke* de los alemanes) tienen un significado distinto de los de las ramas ascendentes de las asas de Hanle y de los tubos contorneados de segundo orden *(Schaltstücke)*; solamente los primeros retienen el colorante vital, y es difícil sustraerse a la idea de que realizan una verdadera función secretora respecto al carmín; admitiendo solamente la función reabsorbente, no se podrían explicar de un modo satisfactorio los resultados de SUZUKI y de tantos otros autores posteriores a él. ¿Por qué los tubos contorneados de primer orden deberían reabsorber el carmín y almacenarlo, si se trata de una substancia inútil y hasta perjudicial, una vez que el glomérulo lo ha eliminado de la sangre? Recordemos incidentalmente que también los venenos presentan afinidades electivas con relación a diversos segmentos del mismo túbulo contorneado de primer orden: así, las sales de cromo lesionan más la primera porción de éstos, y las sales de urano, la porción distal; la cantaridina y el sublimado atacan la porción de paso a las asas de Henle, así como el sistema de tubos contorneados de segundo orden. También esta electividad de ciertos venenos sería favorable a una función verdaderamente eliminadora de los diversos segmentos tubulares y no al concepto de la pura reabsorción de agua y de ciertos cuerpos disueltos y a una acción de los venenos solamente — por decirlo así — desde el interior de la cavidad tubular.

De todas maneras, parece probable que la función del glomérulo sea algo más que una función filtradora que se realiza bajo la influencia de la presión de la sangre, por lo tanto, en el fondo, en virtud de la actividad cardíaca; mientras que el trabajo renal verdadero es un trabajo tubular, para la reabsorción especialmente de agua y — si no se quiere seguir de una manera demasiado exclusiva la teoría de CUSHNY — para la secreción de cuerpos diversos.

A propósito de la filtración glomerular, recordemos que, según STARLING (3), los coloides del plasma sanguíneo determinan una presión osmótica de 30 mm. de Hg, y que así como dicha filtración consiste en la separación de estos coloides de todo el resto, agua y cristaloides, del líquido plasmático, la fuerza filtradora debe estar regulada

(1) PIRAS, *Arch. di Fisiol.*, vol. XX, fasc. 3.°, 1922.
(2) *Zur Morphol. d. Nierensekretion.* Fischer, Jena, 1912.
(3) *Journ. of Physiol.*, vol. XXIV.

por encima de este valor de la presión osmótica de los coloides plasmáticos. En efecto, la secreción urinaria se detiene si la presión arterial en la arteria renal desciende por debajo de 30-40 mm. de Hg, y para que la secreción se realice bien, es necesario una diferencia de unos 40 mm. de Hg entre la presión de la sangre y la presión endouretérica o endotubular. Todo lo que disminuya la presión osmótica de los coloides plasmáticos, hace que, a igualdad de presión arterial, la filtración sea más abundante; es natural que lo mismo se obtenga si se eleva la presión arterial manteniendo constante la presión osmótica de los coloides. En realidad, la dilución del plasma (inyección intravenosa de solución salina) aumenta la filtración glomerular (de donde se origina la diuresis) porque, según esta manera de ver, hay una disminución de la presión osmótica de los coloides y, por lo tanto, disminuye también la contrapresión que debe vencer la fuerza filtradora (presión de la sangre).

Sin embargo, actualmente el concepto de presión osmótica de los coloides (al cual también se adhiere KROGH, a propósito de los cambios entre los capilares y los espacios intersticiales de los tejidos) tiende a ser sustituído, como factor dominante en la diuresis, y en general en los cambios de agua, por el de la imbibición de los coloides y de su mayor o menor hidroafinidad. Siguiendo a STARLING, pero según estas nuevas ideas, se debería decir que la fuerza filtrante debe vencer la presión de imbibición de los coloides del plasma, debe en cierto modo exprimir agua de los mismos coloides, y esto lo hace tanto más fácilmente cuanto menor es en éstos la tendencia a fijar agua de imbibición. En la página 500 hemos indicado ya la importancia de los factores coloidales en la interpretación de los cambios hídrico-salinos entre los tejidos y la sangre por una parte, y entre la sangre y la orina por otra (ELLINGER).

Sea como fuere, es un hecho que la eliminación de sales y productos catabólicos por el parénquima renal obedece a varias leyes: una de las más importantes, esencial para que el riñón pueda servir de órgano de regulación de la isotonía e isionía de la sangre (Sección II, Cap. VI), es la que se refiere al *límite de eliminación* de cada substancia. Ya hemos visto como CUSHNY, refiriéndose a la reabsorción, habla de substancias sin límite (urea); pero considerando globalmente la función renal, y sin querer distinguir cuáles son las substancias segregadas activamente, cuáles las filtradas y luego concentradas en el filtrado por reabsorción de otros cuerpos, puede decirse que todas las substancias urinarias tienen un *límite*, esto es, son eliminadas de la sangre a la orina cuando su concentración en la sangre alcanza cierto valor. Si no fuese así, no podría existir la admirable constancia de composición química de la sangre. El riñón representa una barrera más o menos alta para las distintas substancias: apenas esta barrera es rebasada, las substancias se vierten en la orina. El límite, por ejemplo, es bajo para la urea, la cual en la práctica se encuentra siempre en la orina, por mucho que disminuya su concentración en la sangre, tanto que ha podido ser considerada como substancia sin límite (CUSHNY); mucho más alto es el límite para el cloruro sódico. Para ciertas substancias extrañas, que el riñón debe eliminar siempre y totalmente, no hay verdadero límite. Nótese que para muchas substancias las vías de eliminación y las barreras correspondientes son dos: el riñón por una parte y los tejidos por otra. Esto es cierto sobre todo para el agua y las sales, pero también lo es para los derivados del metabolismo nitrogenado. Hay cambios continuos entre los tejidos y la sangre; hay un traslado de materiales de los tejidos a la sangre que, por decirlo así, anuncia o prepara el de la sangre a las vías urinarias y representa una especie de verdadera *función prerrenal* (VOLHARD), así como en condiciones patológicas hay un transporte de la sangre hacia los tejidos de substancias que el riñón no puede eliminar, una especie de *función excretora invertida;* es lo que vemos en la génesis de los edemas, en la retención clorurado-sódica, cuando el agua y las sales se acumulan en las mallas del tejido, y es lo que quizá sucede también en la retención nitrogenada, en la cual se da actualmente menos importancia que antes a la cantidad de nitrógeno residual o de urea en la sangre, pues se supone que dichas cifras pueden ser modificadas por estos factores extrarrenales de distribución de los materiales correspondientes. A decir verdad, en condiciones normales la urea, la principal de estas substancias catabólicas nitrogenadas, se reparte uniformemente entre la sangre y los tejidos a causa de su gran difusibilidad; pero en las insuficiencias renales parece que ésta y quizá más todavía otras fracciones del N incoagulables se reparten de una manera menos uniforme y según ciertas afinidades para los tejidos, como han demostrado BECHER (1) y ROSEMBERG (2).

Estas nociones son fundamentales para la explicación de la génesis de la uremia, en el curso de la cual algunos, y los mismos BECHER (3) y ROSEMBERG (4), suponen la existencia de otro factor capaz, junto con el de la fijación o retención en los tejidos, de modificar la composición de la sangre: la desintegración proteica de origen tóxico. Las investigaciones experimentales de LAFRANCA (5) serían favorables al concepto de que, por efecto de la supresión de la función renal (nefrectomía bilateral) aumentan los fenómenos de desintegración y las combustiones; en cambio, GRAFE, en observaciones practicadas sobre casos clínicos humanos, sólo encuentra excepcionalmente un aumento metabólico a causa de lesiones renales puras.

En el estudio de las nefritis y de la uremia y en todo lo referente a los edemas y a las retenciones salinas, así como por lo que atañe a las retenciones nitrogenadas, cada día se da más importancia a los *factores extrarrenales* sumados, y a veces hasta de preferencia, a los

(1) *Deutsch. Arch. f. klin. Med.*, vol. CXXXIV, CXXXV.
(2) *Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol.*, vol. LXXXVII.
(3) *Deutsche med. Woch.*, 1919, n.° 10; *Zeitschr. f. exper. Pathol.*, vol. XX, 1919.
(4) *Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol.*, vol. LXXIX.
(5) *Bioch. Zeitschr.*, vol. VIII.

factores renales, y aun cuando en la práctica la investigación de la *azoemia* o mejor de la *hiperazoemia* (WIDAL) conserva un cierto valor, debemos abstenernos de conclusiones diagnósticas y pronósticas demasiado absolutas ante el aumento de la urea en la sangre (1). Queda como mérito fundamental de H. STRAUSS y de WIDAL el haber distinguido formas urémico-nefríticas, con predominio de trastornos en la eliminación y reparto del agua y de las sales (edematógenas o hidropígenas), y formas con predominio de retención o de desequilibrio de repartición de las substancias catabólicas nitrogenadas (formas azoémicas). Probablemente la diversidad de comportamiento, en los casos patológicos, entre estas dos clases de substancias (sales, de las que podemos tomar como tipo el NaCl, y derivados nitrogenados, cuyo tipo representativo es la urea) depende de la diversidad de comportamiento fisiológico, que SCHLEYER resume en el siguiente cuadro:

Propiedades extrarrenales:	NaCl	Urea
a) Desviable extrarrenalmente	ligeramente	difícilmente
b) Tendencia a formar depósitos en los tejidos	grande	escasa (?)
Propiedades renales:	**NaCl**	**Urea**
a) Límite	si (?)	si (? bajo)
b) Poder de obstrucción del filtro renal (2)	si	?
c) Dependencia de la circulación renal	grande	ligera
d) Dependencia de la eliminación acuosa	grande	escasa
e) Tendencia a acumularse dentro de la célula renal	poca	grande (?)
f) Superficie secretora indispensable (3)	pequeña	grande
g) Sustituibilidad (4)	si	?
h) Influenciación por vía nerviosa	si	no (?)

Para terminar esta breve exposición acerca de la función renal, nos hemos de ocupar de las *influencias hormónicas* y *nerviosas* que pueden manifestarse en ella. Ya hemos indicado la influencia del tiroides sobre el metabolismo hídrico y la acción accidentalmente diurética de las hormonas tiroideas (pág. 497 y 683); aquí tenemos que añadir especialmente la acción de la hormona de la lámina epitelial o *pars intermedia* de la hipófisis, que es considerada frecuentemente como diurética, pero cuya función respecto al riñón está muy lejos de haber

(1) Véase también: SCHLEYER, en *Lehrb. d. pathol. Physiol. Barth.* Leipzig 1922.

(2) A veces se eleva el límite de excreción del NaCl, como en los *edemas del hambre;* varios factores farmacológicos producen también modificaciones del límite para ciertas substancias urinarias (más que para las sales y productos catabólicos nitrogenados), algunas veces con impermeabilidad temporal.

(3) La reducción de la superficie renal (extirpación parcial, etc.), reduce más la eliminación de urea que la de las sales.

(4) La sustituibilidad se observa para el NaCl cuando se inyectan sales no aptas para permanecer en la sangre y que el riúón *prefiere* eliminar pronto: si se inyecta en las venas sulfato de sosa, el riñón lo elimina en seguida, prefiriéndolo al NaCl: en este caso puede obtenerse orina sin NaCl. Se trata de exigencias de la isotonía e isionía de la sangre, que se manifiestan de este modo.

sido aclarada. Así, mientras FRANK (1) continúa sosteniendo recientemente la acción diurética de la hormona de la *pars intermedia (pituitrina infundibular)* creyendo que sólo en una segunda fase, y por vía de compensación, se obtiene la acción oligúrica, otros opinan que la acción oligúrica (que ocasiona también un aumento de la concentración de la orina) es predominante y primitiva (2). También el reciente trabajo de ALPERN (3) acepta una acción oligúrica moderada de la secreción infundibular, en el animal normal.

Esta cuestión se relaciona con la génesis de la diabetes insípida, la cual se ha atribuído a un trastorno hipofisario, precisamente en el sentido de una hiperfunción de la *pars intermedia* (FRANK) o de una hipofunción de ésta (según todos los autores que admiten la acción oligúrica de la secreción infundibular), o bien se supone debida a un trastorno secretorio del riñón (pérdida absoluta del poder de concentración), no tanto por efecto de lesiones intrínsecas, como por alteraciones de la inervación. Alrededor de este grupo de teorías nerviosas de la diabetes insípida se han desarrollado las investigaciones que han demostrado la complejidad del metabolismo hídrico-salino y su dependencia de los factores nerviosos. Es ya antigua la observación de CLAUDIO BERNARD, de que la estimulación del suelo del cuarto ventrículo puede producir a veces poliuria sin la glucosuria acostumbrada. Las investigaciones de JUNGMANN y MEYER (4) han puesto en evidencia que en el bulbo, además de un centro que influencia la eliminación de agua, hay otro que regula la secreción salina: he aquí, pues, un primer mecanismo nervioso central, quizá relacionado por la vía del simpático (esplácnico) con la función eliminadora de agua y sales por el riñón. ASCHNER (5) y luego CAMUS y ROUSSY (6) han demostrado que entre los centros vegetativos de la región hipotalámica existen unos que rigen el metabolismo hídrico-salino, de donde la teoría, desarrollada especialmente por LESCHKE (7), de que la diabetes insípida está en relación con lesiones de esta región nerviosa, topográficamente vecina a la hipófisis y, por lo tanto, susceptible de ser afectada simultáneamente por los tumores y otras afecciones hipofisarias. Así se explicaría la relación frecuentemente observada entre las enfermedades de la base del cráneo, las hipofisarias, las meningitis basilares y la poliuria esencial, sin estar obligados a recurrir a la admisión de una influencia hormónica hipofisaria, que aparece poco clara a consecuencia de resultados experimentales contradictorios. Según UCKO (8), la corteza cerebral influiría también en la economía hídrico-salina; en

(1) *Klin. Woch.*, 1924, n.° 19 y 20.

(2) RÖMER, *Deutsche med. Woch.*, 1914, n.° 3; KONSCHEGG y SCHUSTER, *Id.*, 1915 número 37.

(3) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXXIV, pág. 324, 1923.

(4) *Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol.*, vol. LXXIII.

(5) *Pflüger's Arch.*, vol. CXLVI.

(6) *Compt. rend. Soc. de Biol.*, vol. LXXV y LXXXIII.

(7) *Zeitschr. f. klin. Med.*, vol. LXXXVII, fasc. 3 y 4.

(8) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.* vol. XXXVI, pág. 211, 1923.

el perro existirían zonas corticales cuya excitación produciría un aumento de la tolerancia de los tejidos para el agua y las sales, que se manifestaría clínicamente por oliguria, disminución de la secreción de NaCl y de la concentración del NaCl en la sangre circulante ; también parece haber zonas dotadas de un efecto opuesto (poliuria, hipercloruremia, etc.).

De todos modos, en la diabetes insípida no sólo influyen factores renales, sino también extrarrenales : se distinguen con WEIL (1) formas hiperclorurémicas e hipoclorurémicas (2), según el comportamiento de la concentración salina en la sangre, y de un engranaje distinto de los factores extrarrenales, renales, nerviosos y quizá endocrinos. Es notable que la pituitrina infundibular tiene en un gran número de formas de diabetes insípida (quizá en las hiperclorurémicas) una poderosa acción antipoliúrica, excediendo bastante de la análoga (oligúrica), pero limitada que posee la hormona sobre el organismo sano (ALPERN).

No deben confundirse con la verdadera diabetes insípida las poliurias *secundarias* con polidipsia, como las que se presentan por alteraciones psicógenas del sentido de la sed.

---

(1) *Bioch. Zeitschr.*, vol. XCI.
(2) Véase *Relazione di* M. ASCOLI *al XXIX Congr. Soc. italiana di medicina interna*, Roma, 1923.

CAPÍTULO II

La composición química de la orina normal y patológica

a) GENERALIDADES, DENSIDAD, OLOR, PIGMENTOS CROMÓGENOS.

En las páginas precedentes y en ocasiones diversas se han dado ya varias nociones acerca de la química urinaria ; así, en la Primera Parte, al describir los distintos componentes del organismo, y en la Segunda Parte, a propósito de la composición del medio orgánico interno, cuya constancia está garantizada por la función del emunctorio renal, y sobre todo, al tratar del metabolismo, cuyos productos terminales (especialmente los del metabolismo proteico) aparecen en la orina y cuyas modificaciones se traducen en variaciones de la composición urinaria. Desde que existe una medicina científica, el estudio químico y químico-físico de la orina ha constituído un importante medio de investigación de los fenómenos del metabolismo intermedio.

Debemos ahora completar algunas nociones y resumir y reagrupar las que antes hemos dado. Ante todo debemos decir que la proporción centesimal de los distintos constituyentes urinarios no tiene en sí ningún valor, porque varía mucho, y por efecto de varios factores, el volumen de agua en que están disueltos. Solamente puede tener cierta importancia la determinación de los constituyentes urinarios en la orina emitida en 24 horas ; es más exacta, pero poco empleada, la determinación referida, siempre en las 24 horas, a 1 kg. de peso corpóreo. Pero como este peso está integrado parcialmente por tejidos metabólicamente poco activos, como las grasas de depósito, y el valor biológico de 1 kg. de un obeso no equivale al de 1 kg. de persona flaca, la determinación ideal sería la que se refiriera a la unidad de peso de protoplasma respirante, de substancia viva y activa metabólicamente ; sin embargo, ya hemos indicado las dificultades prácticas de esta determinación de la masa de proteína viviente.

En la práctica nos contentaremos en la mayoría de los casos con determinar la eliminación de los distintos constituyentes urinarios en las 24 horas, pero teniendo en cuenta el *régimen* y el *género de vida del individuo*. Hay aún una gran cantidad de médicos que se afanan

en determinar la urea y el ácido úrico en la orina de los pacientes sin preocuparse de las proteínas y de los cuerpos púricos ingeridos, y que, sin embargo, hacen un diagnóstico fundándose en la proporción de estos cuerpos en una pequeña muestra de orina, recogida no se sabe cuándo ni después de qué ingestión de agua o de alimentos. En muestras de esta clase, recogidas sin método alguno, solamente puede hacerse la investigación puramente cualitativa de algunos escasos constituyentes patológicos.

La orina *normal* es un líquido de color amarillo cetrino, de un peso específico de 1,015-20, que puede llegar a 1,040-1,045 después de grandes sudores, y que puede descender hasta 1,002-1,003 por efecto de grandes ingestiones de agua o de cerveza. En las páginas 451 y 452 hemos indicado la importancia de la determinación del peso específico (por medio de areómetros con *corrección de la temperatura)* en el estudio de las enfermedades renales. Las cifras que acabamos de citar se refieren a temperaturas de 15°-18°.

El peso específico es la medida más sencilla y cómoda de la eliminación urinaria de substancias sólidas ; para obtener la cantidad total de éstas por un litro de orina basta multiplicar las dos últimas cifras por 2,2337 ; así, una orina que tenga un peso específico de 1,020, llevará en disolución una cantidad de substancias sólidas de :

$$20 \times 2{,}2337 = 44{,}674 \text{ gr. por litro.}$$

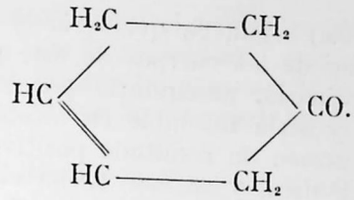
La urea es una de las substancias que tienen más importancia en la fijación del peso específico de la orina ; a esto se debe que se encuentren pesos específicos elevados en todas aquellas circunstancias en que está aumentada la eliminación de cuerpos catabólicos nitrogenados, y sobre todo en la fiebre.

Entiéndase bien que el valor de la determinación del peso específico depende de la abundancia de las comidas y de la manera y tiempo en que se han recogido las muestras (véase más arriba).

La cantidad de orina emitida diariamente es de 1,5-2 litros, y varía en razón inversa del peso específico. En las poliurias se encuentran generalmente orinas poco concentradas, y en las oligurias, orinas muy concentradas. La patología ofrece numerosos ejemplos de excepciones: una de las más típicas en la diabetes, en la cual la orina, a causa de contener azúcar, tiene un peso específico elevado, y además es emitida en gran cantidad.

La orina suele ser transparente, aunque a veces presenta una « nubécula » de naturaleza mucoide. En ocasiones está más o menos enturbiada por la presencia de cristales, células, etc., que constituyen el sedimento, cuyo examen se hace por procedimientos químicos y con el microscopio.

La orina tiene un *olor* especial, que se atribuye a un cuerpo de estructura de cetona cíclica, el *uronod*, aislado en pequeñas cantidades en forma de un aceite amarillento :



La orina debe su *color* esencialmente al *urocromo*, que deriva por oxidación del *urocromógeno*, el cual a su vez es un cuerpo sulfurado y nitrogenado, del tipo de polipéptido, que pertenece al grupo de los *ácidos oxiproteínicos*, verdaderos productos de desintegración proteica incompleta, de los cuales se desembaraza el organismo por la vía renal.

Normalmente en la orina hay solamente urocromo y no la substancia madre, el urocromógeno ; pero en casos patológicos, cuando la desintegración proteica está exagerada y, sobre todo, cuando hay un trastorno de las combustiones intraorgánicas, en lugar del producto de *oxidación* completa, como el urocromo, puede aparecer el urocromógeno, que sería el responsable de la reacción con el permanganato de M. Weiss (1). Esta reacción, sencillísima, se practica diluyendo un volumen de orina fresca en dos partes de agua, y dividiendo la mezcla en dos porciones : una de las cuales sirve como término de comparación cromática y la otra para la reacción, que consiste en añadirle tres gotas de solución al 1 °/₀₀ de permanganato potásico ($KMnO_4$) ; debe aparecer un color amarillo con tendencia al verde (2). Weiss atribuye su reacción al mismo cuerpo (el urocromógeno) que, según él, produciría la diazorreacción de Ehrlich (véase más adelante), e insistiendo sobre esta cuestión en una monografía reciente (3), dice que su reacción tiene valor diagnóstico en la tifoidea, en la tuberculosis y en varias formas con hematosis dificultada, de un modo perfectamente comparable a la diazorreacción (4).

Según M. Weiss el urocromógeno contiene fenilalanina en abundancia y está extensamente hidroxilado. Este cuerpo, procedente del metabolismo proteico de los grupos pigmentógenos, podría, de la misma manera que el urocromo, experimentar fenómenos de oxidación y condensación ulterior y producir verdaderas melaninas. Ya Dombrowski (5) había obtenido melanina tratando en caliente el urocromo por ácidos fuertes ; Weiss ha visto producirse una melanina del urocromógeno-urocromo por simple oxidación espontánea a la luz : una

(1) *Wiener klin. Woch.*, 1907, n.° 33 ; *Id.*, 1915, n.° 39.
(2) La reacción puede ofrecer dificultades por la presencia de bilirrubina o urobilinógeno (que, sin embargo, da un color rojizo con el permanganato). Para evitarlo M. Weiss aconseja tratar la orina con sulfato amónico (25 cc. de orina y 20 gramos de sulfato amónico en un mortero) y filtrar : el filtrado no contiene ya pigmentos perturbadores, sino solamente el urocromógeno, si existía, y sirve para la reacción con el permanganato.
(3) *Neuere Harnuntersuchungsmethoden u. ihre klin. Bedeutung.* Berlín, Springer, 1922.
(4) Igualmente opina Ferranini, *Riforma medica*, 1915, n.° 18.
(5) *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. LXII.

uromelanina (THUDICUM) según él, que sería el producto de máxima saturación con oxígeno de los cuerpos de este grupo y, a diferencia del urocromógeno ordinario, precipitaría por saturación del líquido con sulfato amónico y sería insoluble en alcohol. WEISS dice haber encontrado que su reacción da resultado positivo en orinas de portadores de tumores melánicos, y en este hecho ve una confirmación de sus ideas acerca de las relaciones entre las melaninas y el urocromógeno-urocromo. Normalmente sería el mismo riñón el que fabricaría el urocromógeno y el urocromo a partir de derivados del metabolismo proteico: el hecho de que la orina de los enfermos de esclerosis renal sea palidísima sería, según él, una confirmación de que la fabricación del urocromo tiene lugar en el riñón.

Como se ha dicho en la página 197, parece que los cuerpos pirrólicos tienen alguna intervención en la génesis de la diazorreacción, así como en la formación de melaninas; por lo cual las ideas de M. WEISS merecen alguna reserva en lo referente a estas conexiones genéticas entre reacciones y cuerpos diversos.

Después del urocromo debemos citar entre los pigmentos urinarios la *uroeritrina*, que colorea en rojo ladrillo los sedimentos uráticos; poco se sabe químicamente acerca de ella; es soluble en alcohol amílico, aumenta en la fiebre y después de abundantes ingestiones de alimentos, en la gota, etc.

Tenemos, además, la *urorroseína*, que aparece con un hermoso color rojo tratando ciertas orinas con ácidos minerales: esta *reacción de la urorroseína* es debida a un cromógeno de la orina, cuya naturaleza es discutida, pero que parece ser ácido indolacético o, mejor (1), ácido indolacetúrico (la combinación de la glicocola con el ácido indolacético). Esta reacción se practica defecando la orina con acetato de plomo y luego añadiendo al filtrado HCl y algunas gotas de solución al 0,5 % de nitrito sódico; pero WEISS (2) dice que es preferible emplear orina no defecada, y practica la reacción añadiendo 3 cc. de HCl concentrado a 20 cc. de orina, mezclando bien y añadiendo luego 1-2 gotas de la solución al 0,5 % de nitrito sódico. El color rojo aparece en seguida. La reacción es debilísima en la orina normal, se acentúa siempre que están aumentados los fenómenos de putrefacción intestinal, especialmente a consecuencia de tumores malignos que provocan estasis del contenido intestinal. Puede existir alguna vez independientemente de la estasis intestinal y en casos muy raros como consecuencia de tumores situados fuera del tubo digestivo, de modo que no sería absurdo pensar que el cromógeno, el ácido indolacetúrico, pueda formarse también extraintestinalmente, por fenómenos de escisión proteica anormal o exagerada, como HOMER parece suponer para éste y otros derivados indólicos de la orina.

(1) HOMER, *Journ. of biol. Chem.*, vol. XXII, pág. 345.
(2) Monografía citada.

Podemos citar también aquí el *rojo de escatol*, que tiene el mismo espectro de absorción que la urorroseína, a la que algunos consideran idéntico; sin embargo, HOMER ha demostrado que son distintos, siendo el rojo de escatol el resultado de la mezcla de dos pigmentos diversos, con núcleo indólico.

En la página 209 hemos mencionado y explicado la *reacción del indican*, cuyo cromógeno está formado por *indoxilo* acoplado con ácido sulfúrico o con ácido glucurónico. ELLINGER sostiene que este cuerpo indólico puede proceder únicamente de la putrefacción intestinal (1); mientras que ROSENFELD (2) y algunos otros autores aceptan la posibilidad de su formación en el metabolismo intermedio, y HOMER llega a considerar la insuficiencia del hígado para metabolizar el triptófano entre las causas de la aparición en la orina de las substancias capaces de producir estas reacciones coloreadas. La *reacción de* ROSENBACH pertenece también a este grupo (pág. 209).

Sea como fuere, este grupo de reacciones debidas a cuerpos indólicos está, aunque no exclusivamente, en relación de una manera principal con el desarrollo de las putrefacciones intestinales, como saben todos los médicos. Para la reacción del indican, practicada con los métodos acostumbrados (3), podría aplicarse la ley de que es especialménte positiva cuando hay un gran desarrollo de las putrefacciones intestinales en el intestino delgado, en donde normalmente no se producen, mejor que por el solo aumento de los procesos de putrefacción en el intestino grueso (así, la oclusión del intestino delgado daría la reacción con preferencia a una oclusión localizada en el intestino grueso), quizá porque en este último muchas substancias con núcleo indólico ya habrían sido reabsorbidas, o bien porque en el intestino delgado son más favorables las condiciones de absorción y paso a la sangre.

(1) *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. XXXIX; *Bietr. z. chem. Physiol. u. Pathol.*, vol. IV.
(2) *Id.*, vol. V.
(3) Transcribimos las *reacciones del indican* más corrientes:
R. de JAFFÉ. — Mezclar 1/4 de tubo de ensayo de orina con una cantidad igual de HCl concentrado; añadir a gotas un poco de una solución semisaturada de cloruro de cal (clorohipoclorito de calcio), sin agitar y lentamente: anillo azul de índigo en la parte alta de la mezcla, que se extiende oscureciéndose cada vez más. Evitar el exceso de cloruro de cal, que oxidaría el índigo formando isatina (amarilla). Si la orina es albuminosa, es mejor desalbuminarla antes (ebullición del líquido ligeramente ácido; filtrar). El índigo se disuelve en cloroformo (que, si se añade y agita después, hace más sensible la reacción: color azul de la capa de cloroformo que se reúne en el fondo).
R. de OBERMEYER. — Defecar la orina, añadiéndole un poco de solución (al 20 %) de acetato de plomo; filtrar. Al filtrado se añaden partes iguales de HCl fumante que contenga en disolución 4 gr. de percloruro de hierro líquido o, 1,3 gr. de percloruro de Fe sólido, por litro. Se agita con cloroformo pasados algunos minutos: coloración azul de la capa clorofórmica. En este caso la sal férrica es quien hace de oxidante, débil, y con menos tendencia que el cloruro de calcio a llevar la oxidación más allá de la formación del azul de índigo. Esta reacción ha sido empleada por STRAUSS *(Deutsch. med. Woch.*, 1902, n.° 16) para la determinación cuantitativa (colorimétrica).
SALKOWKI ha recomendado el empleo del sulfato de cobre como oxidante suave. Se ha propuesto también el clorato potásico (solución al 3 %: una gota para 10 cc. de orina, acidulada como de costumbre).

Un grupo importante de pigmentos, existentes en parte en la orina normal, pero que aparecen especialmente en las patológicas, está representado por los *pigmentos hematógenos* o *hemoglobinógenos*, los que derivan, por lo tanto, de la hemoglobina y que, encontrándose en la sangre, pasan más o menos a la orina (Sección II, Cap. III, c). Entiéndase bien que en la orina se puede encontrar también hemoblogina, disuelta (hemoglobinuria, si hay hemoglobinemia intensa por hemolisis intravital) o unida a los hematíes *(hematuria;* hemorragias en las vías urinarias, del riñón hacia afuera).

Entre los pigmentos hematógenos tenemos normalmente el *mesobilirrubinógeno* o *urobilinógeno* o *bilinógeno*, que bajo la influencia de la luz puede transformarse más o menos en *urobilina* o *bilina*, aunque ésta también puede encontrarse en la orina apenas emitida *(urobilinuria)*.

Como ya hemos dicho en la página 162, se trata de un grupo de pigmentos complejos y todavía mal definidos, más que de dos substancias únicas. Quizá el *bilinógeno* es el cuerpo mejor conocido, mientras que la bilina es el resultado de productos distintos de condensación y oxigenación del bilinógeno. Téngase presente que el color amarillo normal de la orina es debido al urocromo, no al bilinógeno, y adviértase bien que *ni el bilinógeno ni el urocromo dan ningún espectro de absorción característico*, por lo cual, la *orina normal, fresca y exenta de urobilina, no presenta al espectroscopio bandas de absorción*, sino solamente una absorción difusa en el violeta.

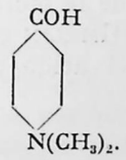
En la página 162 ya hemos indicado las reacciones características. Allí dijimos que la urobilina o bilina *(que tiene un espectro propio y característico)*, se revelaban bien, en la orina acidificada con HCl, por medio del espectroscopio: banda de absorción en el verde, entre E y F (los pigmentos biliares absorben de una manera mucho más difusa). Químicamente se demuestra la bilina alcalinizando fuertemente la orina con NH_3 filtrando y añadiendo algunas gotas de solución al 10 % (alcohólica o acuosa) de cloruro de zinc: fluorescencia verde. Si la urobilina es escasa, conviene extraerla tratando la orina (acidulada por medio de HCl) con $^1/_3$ de su volumen de alcohol amílico, agitando suavemente y dejando separar la capa alcohólica, que arrastra el pigmento. Si la separación no es bien clara, si la capa alcohólica es turbia, se añaden algunas gotas de alcohol etílico. La capa alcohólica, separada del resto, se trata con algunas gotas de solución alcohólica de NH_3 y con solución alcohólica de $ZnCl_2$ al 1 %, y se comprueba si hay fluorescencia. Es preferible la modificación de SCHLESINGER: se prepara una mezcla, que no se filtra, de 10 partes de acetato de zinc y 90 partes de alcohol absoluto; en el momento de usarla se agita y se mezcla con partes iguales de orina (por ejemplo, 10 cc. de orina y 10 cc. de reactivo), se filtra el precipitado que se forma y se observa si el filtrado presenta fluorescencia verde; en caso negativo se alcaliniza con NH_3; si hay urobilina, debe haber fluorescencia, así como la absorción característica al espectroscopio. Es necesario dejar en reposo la mezcla durante 24 horas: puede suceder que la fluorescencia aparezca más tarde, como prueba de la presencia en la orina de bilinógeno, que poco a poco se transforma en bilina y da fluorescencia. Por lo tanto, la reacción tardía de SCHLESINGER es prueba de la presencia de bilinógeno. Si la reacción es inmediata, pero se acentúa con el tiempo, quiere decir que existía bilina y bilinógeno.

El bilinógeno se demuestra mejor por medio de la *reacción de* EHRLICH con el p-dimetilaminobenzoaldehido, que, según HILDEBRANDT, se practica en la orina de la siguiente manera: se trituran en un mortero 20 gr. de este compuesto (1) con 100 gr. de ácido clorhídrico concentrado, se añade ácido hasta 500 cc. de volumen total, se completa con agua hasta 1000 cc. y se filtra. Se echan dos gotas de este reactivo a la orina colocada en un tubo: color rojo por presencia de bilinógeno, a veces con retraso o solamente después de la ebullición. El espectroscopio revela una banda entre D y E (en el amarillo *anaranjado);* la investigación espectroscópica puede considerarse *necesaria* si se quiere estar seguro de la identificación.

La *urobilinia* o aumento de la formación de urobilina y de urobilinógeno (especialmente de este último, que es el cuerpo mejor conocido) es un signo de aumento de la destrucción del pigmento hemático en el organismo; según la escuela de RIVA y de ZOIA (2), el *bilinógeno es el reflejo de la hemolisis intravital.* Pero, si queremos formarnos una idea de la bilinogénesis integral, es necesario tener en cuenta no solamente la presencia del bilinógeno y de la bilina en la orina, sino también en las heces: en efecto, la mayoría de autores considera actualmente que el bilinógeno urinario es una porción del que se forma en el intestino a expensas de la bilirrubina por la acción reductora de las bacterias intestinales, y que se llama también hidrobilirrubina o estercobilina. Así es que en la determinación del grado de urobilinuria o excreción urinaria de la bilina-bilinógeno, influirían factores hepáticos (circulación entero-hepática, véase página 162) y entéricos (putrefactivos). Naturalmente, no puede excluirse la intervención de factores renales, según observaciones del mismo ZOIA, acerca de la disminución del bilinógeno en la orina de los nefríticos (3).

---

(1) Fórmula simplificada:



(2) Véase la monografía de éste, ya citada en la página 156 y el trabajo de GREPPI, en *Problemi della nutrizione*, vol. I, fasc. 2.°, 1924.

(3) TARANTOLA *(Bioch. e terap. sper.*, 1922) describe los métodos a propósito para estudiar cuantitativamente la formación de bilina en el intestino (generalmente se trata de dosificaciones espectroscópicas de las heces), como expresión, pero sin un paralelismo absoluto, de la formación de pigmento biliar y por lo tanto de destrucción de la hemo-

Se encuentra, además, en pequeñísimos indicios en la orina normal, así como en las heces, *hematoporfirina;* aumenta en los casos llamados de *porfirinuria.*

Las porfirinurias se dividen en tres clases:

1.° Porfirinurias en los envenenamientos por el trional, sulfonal, plomo.

2.° Porfirinurias congénitas con hipersensibilidad cutánea a la luz y manifestaciones de *hydroa aestivalis* (pág. 542).

3.° Las formas, genéticamente muy oscuras, acompañadas de ataques de cólico, estreñimiento, a veces hemorragias intestinales y a veces del síndrome paralítico del tipo Landry: formas descritas y estudiadas por SNAPPER (que considera también el cólico saturnino desde este punto de vista: el Pb, como otros venenos, produce porfirinemia, cólicos con estreñimiento, etc.) (1) y por EHRENBERG (2). Ciertas porfirinas normales derivarían del pigmento muscular o miohematina (3), y sería interesante estudiar si aparece porfirinuria durante las distrofias musculares.

La investigación de la hematoporfirina puede practicarse (GARROD) de esta manera: a 100 cc. de orina se añaden 20 cc. de solución diluída de sosa cáustica, de manera que se precipiten los fosfatos térreos, los cuales arrastran el pigmento (rojo). Si la orina contiene pocos fosfatos y dan un precipitado escaso, se añade previamente en poco de fosfato cálcico disuelto en ácido acético (es decir, se prepara una especie de mezcla salina urinaria artificial, colocando en un tubo una solución de $CaCl_2$ con fosfato monosódico, de manera que se obtenga un precipitado de fosfatos térreos que se disuelve en ácido acético: el todo se añade a la orina y luego se procede, como de costumbre, con la sosa). Una vez sedimentados los fosfatos, se llevan a un filtro y se lavan con agua (procurar no perder la porfirina si es escasa). El precipitado se extrae con alcohol acidulado con HCl, y el líquido extractivo se examina al espectroscopio (dos bandas características en el amarillo, que se transforman en cuatro si se alcalinizan con NH_3: hematoporfirina en solución ácida o alcalina).

Los pigmentos biliares se investigan por el método de GMELIN, ya indicado en la página 160: actualmente hay métodos cuantitativos, de los cuales el más sencillo es el de SABATINI (4), derivado del método cualitativo también de SABATINI, propuesto y citado en la página 390 a propósito de la investigación de la bilirrubina en la sangre.

Para practicar la *prueba de* GMELIN en la orina hay que tener presentes algunas precauciones: el ácido nítrico-nitroso puede producir

globina. La cantidad urinaria sólo depende de un modo indirecto de la cantidad fecal: las determinaciones cuantitativas practicadas solamente en la orina, poco fruto pueden dar.

(1) *Deutsche med. Woch.*, 1922, pág. 619.
(2) *Klin. Wochenschr.*, 1923, n.° 32.
(3) FISCHER, *München. med. Woch.*, 1923, n.° 36.
(4) *Policlínico*, sez. prat., 1923.

la reacción del indican, cuyo color enmascara la reacción de los pigmentos biliares (el color azul del índigo al mezclarse con el propio de la orina puede dar un tinte verde). En caso de duda, se repite la prueba aislando con el cloroformo el pigmento biliar. Con tal objeto se acidula la orina con HCl (tres gotas en un tubo lleno de orina, para liberar el pigmento de la combinación alcalina (en efecto, en esta forma se encuentra en la orina). Se añade el cloroformo y se invierte varias veces el tubo tapado, para hacer la extracción: el pigmento libre tiene un coeficiente de repartición favorable al cloroformo, y así éste acaba por contener casi todo el pigmento. Entonces se puede practicar la reacción de GMELIN sobre el extracto clorofórmico; es mejor alcalinizarlo con una gota de solución concentrada de sosa cáustica, de manera que se reproduzca la combinación alcalina del pigmento, y agitar luego con agua, en la cual el bilirrubinato alcalino (al contrario que la bilirrubina) es más soluble que en cloroformo, obteniéndose así una solución acuosa de pigmento, apta para la reacción.

Añadamos también la prueba de HUPPERT-SALKOWSKI; alcalinizar la orina con algunas gotas de solución de carbonato sódico, añadir a gotas una solución al 1 : 10 de cloruro de calcio hasta que el líquido (que sobrenada por encima del precipitado que se forma) no es incoloro o del color de la orina normal. Entonces se filtra; el precipitado, que ha arrastrado el pigmento, se lava sobre un filtro y luego se pasa a un tubo con alcohol, se acidula con HCl y se agita hasta que se disuelva. Si esta solución contiene pigmento, hirviéndola al baño-maría se vuelve verde, luego azul, violeta y roja. Este método evita también la confusión con el indican.

El método de extraer con cloroformo los pigmentos biliares o la extracción por medio de la adsorción con carbón animal (en caliente) sirven también para privar la orina de los pigmentos biliares, que podrían estorbar la ejecución de otras pruebas.

En la ictericia, la orina puede (ictericia por retención) contener o no sales biliares: es posible reconocerlas fundándose en su acentuada influencia sobre la tensión superficial (pág. 334).

La investigación del *pigmento hemático*, como *la hemoglobina oxihemoglobina* o (en muchas nefritis, hemoglobinuria, etc.) *metahemoglobina*, ya unida a los glóbulos, ya disuelta, se practica muy bien por medio del espectroscopio. Si la orina contiene también muchos pigmentos biliares, es necesario hacer el examen espectroscópico con un extracto obtenido según la llamada *prueba de* HELLER; alcalinizar la orina con sosa cáustica y hervir; precipitan así los fosfatos térreos, que arrastran la hematina, separada de la Hb o derivados oxidados (si el precipitado no se forma por ser la orina pobre en fosfatos, se opera como se ha dicho antes para la investigación de la porfirina). La coloración roja del precipitado ya es característica (pero se obtiene también por otras causas, como después de la administración de ciertos medicamentos: sen, crisarobina, ruibarbo); pero el precipitado se puede recoger, disolverlo en ácido acético y emplearlo para la identi-

ficación de la hematina al espectroscopio o para la investigación de los cristales de hemina o cristales de TEICHMANN (1). También se puede hacer la demostración de la presencia de sangre (con hematíes disueltos o íntegros) con la conocida prueba de ALMEN-SCHÖNBEIN, fundada en las propiedades peroxidásicas del pigmento hemático (página 375): sobre la orina se dispone formando capa una mezcla de partes iguales de solución alcohólica al 1 : 5 de resina de guayaco (reciente!) y esencia de trementina vieja: anillo azul. La orina debe ser ácida (en caso necesario, acidúlese con ácido acético). Véanse también las reacciones citadas para las heces (pág. 354). Finalmente, en los casos de parahemoglobinemia (pág. 386 y siguientes) pueden encontrarse en la orina los correspondientes derivados hemoglobínicos.

A propósito de las substancias urinarias capaces de dar reacciones coloreadas, debemos ocuparnos ligeramente de la *diazorreacción de* EHRLICH: muchos cuerpos, de núcleo indólico, imidazólico y especialmente pirrólico, dan con el llamado *diazorreactivo de* EHRLICH (que se prepara en el acto mezclando una solución clorhídrica de ácido sulfanílico y una solución diluída de nitrito sódico) una reacción coloreada que EHRLICH encontró hace muchos años en la orina, en el curso de varias afecciones. Hablando de la química del plasma sanguíneo, en la página 389, citamos ya esta reacción que, con ciertas modificaciones, revela también la bilirrubina del plasma. Para la orina se emplea con frecuencia el diazorreactivo de la manera siguiente: la solución I se prepara con 5 gr. de ácido sulfanílico, 50 gr. de HCl y 1000 cc. de agua; el líquido II es una solución al 0,5 % de nitrito sódico. Se mezclan en el momento del empleo 50 cc. de la solución I y 1 de solución II: así se tiene el reactivo (sales de diazonio) preparado. La reacción se hace mezclando un poco del reactivo con partes iguales de orina, y se distinguen dos fases, llamadas reacción *primaria* y reacción *secundaria*. La primera es producida por la reacción cromática siguiente a la mezcla del diazorreactivo con la orina, sin ninguna otra adición: normalmente no aparece ningún color característico, sólo un cierto tinte amarillento; pero si existía mucho urobilinógeno, hay una coloración amarilla más fuerte y, agitando, aparece un color amarillo de huevo en la espuma: ésta es la *reacción amarillo de huevo* (EHRLICH) que aparece siempre que en el organismo hay un aumento de la destrucción del pigmento hemático y, por lo tanto, tiene el mismo significado que las demás reacciones de la bilina-bilinógeno (EHRLICH la observó cerca y después de la crisis de la pneumonía, cuando se reabsorbe el pigmento hemático del exudado hemorrágico). Si hay bilirrubina, se obtiene

(1) Dicho precipitado o el obtenido tratando la orina con solución de tanino se lava y seca: un poco de substancia seca se calienta durante un minuto sobre un portaobjetos con algunos cristalitos de NaCl y una gota de ácido acético cristalizable (sobre la mezcla se pone un cubreobjetos). Si es necesario, se añade un poco de ácido acético en lugar del evaporado; luego, cuando aparece un color oscuro, se deja secar a la temperatura ambiente o con ligero calor. Al microscopio se ven cristales oscuros y característicos (v. fig. 6 en la pág. 155).

también una reacción cromática primaria, pero el color es rojo con cierto matiz violeta: ésta es la base del método citado para la investigación del pigmento biliar en la sangre. WEISS (1) quisiera que la diazorreacción de EHRLICH se usase más frecuentemente, hasta para la identificación de la bilirrubina en la orina. Nótese que la biliverdina y los otros pigmentos biliares no dan la reacción. La acidulación preliminar de la orina con ácido acético hace la reacción más sensible. También ciertos derivados proteicos del tipo de los melanógenos darían, pero muy lentamente (media hora o más), la reacción primaria roja (orinas de portadores de neoplasmas melánicos). WEISS encontraría con esta reacción indicios de bilirrubina incluso en la orina normal, lo cual no debe extrañarnos, porque se sabe que este pigmento existe normalmente (siempre o frecuentemente) en el plasma de la sangre.

Finalmente, se practica la diazorreacción *secundaria*, cuando a la mezcla de diazorreactivo y orina se añade rápidamente NH_3 hasta alcalinización fuerte y agitando: la reacción secundaria es, por lo tanto, la reacción en medio alcalino, mientras que la primaria transcurre en medio ácido. Las orinas normales no producen más que cierto ennegrecimiento; pero la reacción secundaria se llama positiva cuando aparece un hermoso color rojo, con *enrojecimiento de la espuma*. No hay acuerdo acerca del cuerpo o cuerpos que producen esta reacción; según WEISS, se trata del urocromógeno y, por lo tanto, la diazorreacción de EHRLICH en la forma clásica, que es la secundaria con enrojecimiento por alcalinización, sería paralela a la reacción de WEISS con el permanganato. Otros la atribuyen a cuerpos con núcleo pirrólico, y, efectivamente, ANGELI ha demostrado que el pirrol da la diazorreacción (véase acerca de las melaninas). Sea como fuere, se debe tratar de derivados anormales de escisión proteica, de núcleo cíclico, capaces de formar un compuesto coloreado con las sales de diazonio; la reacción es positiva en la tifoidea, en el sarampión, en la tuberculosis avanzada, a veces en el cáncer y en las leucemias. La diazorreacción, en sus diversas modalidades, indica, pues, substancias diversas y tiene un significado distinto.

Finalmente, en cuanto a reacciones cromáticas, debemos añadir la *reacción de* THORMAEHLEN, que se practica alcalinizando la orina y añadiendo un poco de solución de nitroprusiato sódico (recientemente preparada) y luego ácido acético; se opera, pues, como en la prueba de LEGAL para la acetona; pero en este caso aparece un hermoso color azul fugaz. Esta es una verdadera reacción del pirrol, y puede ser positiva en las orinas de portadores de tumores melánicos, así como quizá en otras circunstancias. El modo de practicarla coincide con el de la *reacción cárnea de* ARNOLD, que se asegura aparece en la orina después de abundantes comidas de carne (2); RONDONI (3) opina que

(1) Obra citada en la pág. 737, nota 3.
(2) Véase VON FUERT, *Probl. d. physiol. u. pathol. Chem.* Vogel, Leipzig, 1913.
(3) *Sperimentale*, 1920, fasc. 4-6.

la reacción también es debida en este caso a grupos pirrólicos que se liberan en el metabolismo proteico intenso. Así como EPPINGER (1), ANGELLI y sus colaboradores (pág. 217) y RONDONI suponen la reacción de THORMAEHLEN en relación con grupos cíclicos y especialmente melanógenos, que se forman en el metabolismo intermedio, WEISS cree que es debida a productos que se originan en la putrefacción intestinal.

En cuanto a la *alcaptonuria*, véase página 617.

b) REACCIÓN DE LA ORINA. COMPONENTES MINERALES.

La orina es un líquido de composición mineral bastante compleja. Contiene ácidos clorhídrico, sulfúrico y fosfórico y bases (K_2O, Na_2O. CaO, MgO, NH_3) diversamente combinados: el total de los primeros supera el total de las segundas. Se trata de una solución salina, bastante ligeramente amortiguada (pág. 459), pero cuya reacción de titulación y cuya reacción actual son casi siempre ácidas.

La acidez urinaria tiene un valor notable: representa el esfuerzo del organismo para mantener la H-OH-isoionía, por medio de la eliminación del exceso de valencias ácidas que se forman continuamente en el metabolismo. El organismo intenta economizar álcalis y así, por ejemplo, mientras en la sangre hay preponderancia de fosfatos básicos, secundarios o bimetálicos, como, por ejemplo, el K_2HPO_4, de reacción alcalina, en la orina los fosfatos se encuentran en gran parte en forma de fosfatos ácidos, primarios o monometálicos, como, por ejemplo, el KH_2PO_4, de reacción ácida. De este modo el organismo elimina la mayor cantidad posible de ácido fosfórico con la menor cantidad posible de metal, o sea que retiene la mayor parte de las valencias básicas, desembarazándose de la mayor parte de valencias ácidas. Algo semejante, pero con menos eficacia, sucede con el ácido úrico: una parte es eliminada en forma de ácido libre, mientras que en la sangre se encuentra combinado en forma de sal monosódica; en este caso también aparece la tendencia economizadora de valencias básicas. También el ácido β-oxibutírico, que en su mayor parte circula en forma de sal, o sea unido a las reservas alcalinas, puede ser abundantemente eliminado en forma de ácido libre por el diabético (sin embargo, parece que solamente un 55-60 %).

Por lo tanto, el riñón realiza este trabajo especial destinado a la conservación del equilibrio ácido-básico de la sangre y que consiste en la retención de metales alcalinos con eliminación de ácidos y de sales ácidas, entre las cuales las principalmente responsables de la acidez urinaria son los fosfatos ácidos (monometálicos o primarios).

La reacción urinaria (al tornasol) depende estrechamente de la alimentación: la orina de los herbívoros, a diferencia de la del hombre a régimen mixto y aun más de la de los carnívoros, es alcalina. También en el hombre un régimen vegetariano reduce la acidez urinaria o produce incluso una alcalinización de la orina; en cambio, en los herbívoros, el ayuno, que equivale a un régimen cárneo a expensas de los tejidos propios del organismo, a una especie de autofagia, produce orina ácida.

(1) *Bioch. Zeitschr.*, vol. XXVIII.

En efecto, las cenizas de las carnes y de otros alimentos animales son ácidas, mientras que las de los alimentos vegetales, ricos en potasa, cal, etc., son alcalinas; por lo tanto, con los primeros predomina el aporte de ácidos y con los segundos el de álcalis, sabiéndose que, en el fondo, los alimentos son quemados en el cuerpo y dan residuos inorgánicos de carácter semejante a las cenizas que quedan en el crisol del químico (véase también pág. 547).

Los carnívoros, acostumbrados a la combustión de las carnes (ricas en S y en P, que se oxidan en gran parte formando ácidos sulfúrico y fosfórico), luchan contra la amenaza de acidificación por medio de la fabricación de amoníaco, que se forma abundantemente de los grupos amínicos de las mismas proteínas de la carne, pero quedan siempre valencias ácidas no saturadas, que el riñón procura eliminar. El hombre, a régimen mixto, elimina, pues, orina ácida, pero no si sigue un régimen vegetariano exclusivo y especialmente rico en ácidos orgánicos (frutas ácidas: éstas alcalinizan particularmente la orina porque los ácidos orgánicos, que en ellas existen en abundancia en forma de sales alcalinas, se queman hasta llegar a ácido carbónico, que permanece combinado con las bases alcalinas, y los carbonatos alcalinos resultantes son unos poderosos alcalinizadores de la orina). Por el contrario, entre los alimentos vegetales, los cereales son preferentemente acidificantes, tanto para el hombre como para los animales, y entre las causas distróficas de las dietas exclusivas de cereales, especialmente para ciertos animales (cobaya, conejo), no deja de tener importancia la acción acidótica de éstos sobre el metabolismo. Los granos de los cereales producen orinas ácidas y, por lo tanto, ocasionan un empobrecimiento en álcalis del cuerpo, porque contienen, como los alimentos animales, muchas proteínas y núcleo-proteidos ricos en S y en P, que se queman formando ácidos sulfúrico y fosfórico.

La alimentación influye también de otra manera en la acidez urinaria, primero sustrayendo valencias ácidas a la sangre por la secreción del jugo gástrico, influencia ésta que se nota 3-6 horas después de una comida y que conduce a una disminución de la acidez urinaria o, con comidas abundantes, ricas en carne y excitantes de una buena secreción gástrica, a una alcalinización de la orina (que, efectivamente, después de las comidas son frecuentemente turbias por los fosfatos térreos que precipitan por la alcalinidad del medio); luego, en un segundo tiempo y de una manera menos evidente, determina la sustracción de valencias básicas empleadas en la secreción de los jugos digestivos intestinales: en efecto, a mayor distancia de las comidas la orina, que antes se había modificado en sentido alcalino, vuelve a hacerse marcadamente ácida (1).

(1) Acerca de la llamada « onda de alcalinidad » urinaria después de las comi-

Hay quizá también variaciones horarias de la reacción, no unidas todas ellas a las comidas: durante la noche parece que la orina es más ácida y que por la mañana hay una descarga alcalina.

Si hay hiperclorhidria, hay una variación de la orina en sentido alcalino, más acentuada que normalmente; los vómitos ácidos repetidos también alcalinizan la orina. Viceversa, en la aquilia e hipoquilia faltan estas variaciones de la reacción urinaria.

En estas nociones encontrará el médico una guía para modificar la reacción urinaria, según las necesidades: por ejemplo, prescribirá un régimen vegetariano a los individuos con tendencia a las precipitaciones de ácido úrico y uratos en las vías urinarias, y la ordenará especialmente rica en verduras y frutas ácidas; aconsejará un régimen animal en los casos de fosfaturia (véase más adelante). Los bicarbonatos alcalinos, *per os* o por vía endorrectal, alcalinizan fuertemente la orina y lo consiguen tanto más fácilmente cuanto menor es la formación de ácidos en el organismo o mayor la reserva alcalina. La dosis mínima de bicarbonato de sosa que basta para hacer alcalina la orina al tornasol es una buena medida de orientación para la investigación de estos fenómenos del metabolismo; cuanto más alta es aquella dosis, tanto mayor es la tendencia acidótica. Puede variar entre 3 gr. (en varios papeles en 24 horas; examen de la orina al cabo de un tiempo igual) y 15-20 y, en casos de diabetes, varias decenas de gramos.

El carbonato de Ca no produce generalmente alcalinidad urinaria porque la cal se elimina preferentemente por el intestino delgado; pero obra en este sentido porque la cal arrastra consigo gran cantidad de ácido fosfórico por la vía intestinal, con lo cual reduce los fosfatos urinarios y hace predominar los fosfatos secundarios sobre los primarios (condiciones favorables para la solución del ácido úrico).

La fatiga muscular aumenta la acidez urinaria, así como la fiebre. La orina tiende a alcalinizarse durante la reabsorción de los edemas.

Hace algunos años que se ha comenzado a estudiar la acidez actual o iónica de la orina, de la cual ya hemos dado (pág. 458) algunas cifras. Decíamos que Höber y luego Rossi habían medido la concentración en H-iones de la orina con el método electrométrico, encontrando el primero como cifras extremas $4\text{-}100 \cdot 10^{-7}$ y el segundo (en enfermedades febriles) $9\text{-}54 \cdot 10^{-7}$. Henderson (1) encuentra valores normales que oscilan entre $0{,}4 \cdot 10^{-7}$ y $40 \cdot 10^{-7}$. Quagliariello y sus colaboradores que, como este último, emplearon el método de los indicadores, modificado por ellos (2), dan valores normales entre $2 \cdot 10^{-7}$ y $82 \cdot 10^{-7}$; y también en casos patológicos encontraron poco alterados estos valores extremos, que pueden determinarse en varias muestras de orina, pero, en cambio, estaba modificada la eliminación global y cotidiana de H-iones por unidad de peso corporal. Más recientemente Beckmann (1), Kempmann y Menschel (2) recurrieron al método sencillo de los indicadores en series fijas con el *comparador de* Walpole y Michaelis (3), deduciendo interesantes resultados del estudio de la reacción actual de la orina en varias enfermedades; así, en los cardíacos, al contrario de los sanos, la orina de la noche sería más alcalina (pH más alto); en los edematosos la orina tendría una gran constancia en el pH y, en general, sería más ácida.

Las *sales* de la orina son, pues, los *cloruros*, *fosfatos* y *sulfatos* de *sodio*, *potasio*, *calcio*, *magnesio* y *hierro*.

Para los cloruros y sulfatos, la vía principal de eliminación es el riñón, mientras que para los fosfatos hay una eliminación urinaria y una eliminación intestinal (véase más adelante); si consideramos las bases, la cal y aun más el hierro, tienen una eliminación preferentemente intestinal. Así como las heces no contienen más que pequeñas cantidades de Cl en forma de cloruro, la orina sólo contiene indicios de hierro. En cuanto a los dos metales alcalinos, el Na sigue la suerte del Cl, y, efectivamente, se habla de eliminación de cloruro sódico preferentemente urinaria, ya que las heces contienen poco Na. El K está menos unido a la suerte del Cl, pero aparece en parte notable al estado de fosfatos de K; en las heces hay mayor cantidad de K que de Na, al contrario de lo que pasa en la orina.

Se eliminan por la orina unos 7-15 gr. de *clururo sódico* por día, excepto cuando el régimen es pobre en él, y más (hasta 30 gr. y más) si el régimen lo contiene en abundancia (empleo de verduras, que son, además, saladas, de salazones, etc.). El organismo es avaro de su cloruro sódico, que le sirve para las necesidades osmóticas y para otras funciones esenciales; así, en el ayuno lo economiza y, después de los primeros días, en los cuales se deshace de los cloruros anteriormente almacenados en exceso (la piel es un depósito importante), se coloca en un plan de eliminación económica de 2-3 hasta 1 gr. solamente por día. Es una característica del ayuno de algunos días de duración, esta pobreza de la orina en NaCl. Ya se ha hablado de la retención en la fiebre (página 724). Hay, repitámoslo otra vez, una íntima asociación entre el agua y el NaCl, y la retención de NaCl generalmente ocasiona retención de agua. Koranyi ha introducido en patología renal el empleo de la relación $\frac{\Delta}{\text{NaCl}}$, que indica precisamente la relación entre la eliminación total de substancias disueltas y la eliminación clorurada. Esta relación en la orina de los nefríticos está generalmente (no siempre) por debajo de 2. Si un riñón está enfermo y el otro sano, y se

---

das, hay un trabajo reciente de Fiske (*Journ. of biol. Chem.*, vol. XLIX, n.° 1, 1921): no sería solamente la pérdida de valencias ácidas por el jugo gástrico lo que la produciría, sino que intervendrían otros factores, menos inherentes, sin embargo, a la naturaleza de los alimentos.

(1) *Bioch. Zeitschr.*, vol. XXIV.
(2) *Deutsch. med. Woch.*, 1912, n.° 46 y 47.

(1) *Münchn. med. Woch.*, 1923, n.° 14.
(2) *Klin. Woch.*, 1924, n.° 5.
(3) Dispositivo completo en la casa Leitz, Berlín, y también, con el nombre de *ionoscopio* en el Instituto Seroterápico y Vacunoterápico de Berna (con instrucciones).

recogen separadamente las orinas, el $\frac{\Delta}{NaCl}$ es menor en el lado enfermo: el riñón enfermo, pues, elimina proporcionalmente mejor los cloruros que los no cloruros. Pero existen numerosas excepciones. Esta relación crece frecuentemente al aparecer los edemas, y disminuye al desaparecer éstos.

Para los fosfatos pueden aplicarse las siguientes leyes: con una alimentación rica en cal, base que se elimina por el intestino, una gran parte de los fosfatos es también eliminada por esta vía; con una alimentación rica en bases (régimen alcalinizante), disminuye también la fracción de eliminación urinaria, mientras que los ácidos de origen alimenticio o endógeno aumentan esta fracción. Por lo tanto, si el régimen es animal (acidificante) tendremos una cantidad mayor de fosfatos que se eliminan por la orina; si el régimen es vegetal (rica en bases y especialmente en cal) tendremos que una cantidad menor de fosfatos pasará por el riñón y crecerá la eliminación intestinal.

Los fosfatos proceden de los fosfatos ingeridos como tales (en la carne, en la leche, en distintos vegetales) o de la oxidación del P combinado en forma orgánica con los núcleo-proteidos y con los lipoides. Durante el ayuno disminuye, pero no se interrumpe, la pérdida de fosfatos; en este caso una parte proviene también de los fenómenos desintegrativos a expensas de los huesos. Con un régimen mixto ordinario se encuentran en la orina 2-3 gr. de fosfatos calculados como P_2O_5. La relación $\frac{P_2O_5}{N}$ se tiene frecuentemente en cuenta: para una eliminación de 2 gr. de P_2O_5 y de 10 gr. de N, sería $\frac{2}{10} = 0{,}2$ aproximadamente.

El 60 % aproximadamente del P_2O_5 urinario está combinado en forma de fosfatos monometálicos; un 40 % en forma de fosfatos dimetálicos. Si aumentan éstos a expensas de los primeros, disminuye la acidez urinaria; cuando hay un 40 % de los primeros y 60 % de los segundos, aparece la r. anfótera.

Pasando a considerar las bases a que está unido el ácido fosfórico, diremos que los fosfatos alcalinotérreos (de Ca y de Mg) están en relación con los alcalinos como 1 : 2. El aumento relativo de los fosfatos térreos en comparación con los alcalinos influye frecuentemente en su mayor precipitabilidad: en este caso no hay en la orina una *hiperfosfaturia*, como se admitía en otro tiempo, sino una *calciuria*, un aumento de la cal, que implica una fácil precipitación de los fosfatos (a la ebullición), que además se facilita porque en este caso la orina acostumbra a ser menos ácida o hasta alcalina.

Los *sulfatos* representan la porción de azufre completamente oxidado (véase fracciones del S urinario, en la pág. 642). Una parte de los sulfatos (80 % del S total) se halla libre, y otra, combinada con cuerpos fenólicos formando compuestos etéreos; en total el ácido sulfúrico eliminado por el adulto a dieta ordinaria, procedente de la oxidación del S de las proteínas (existen pocos sulfatos preformados en las proteínas) es de 1,5-3 gr. (calculado como SO_3). De éste, aproximadamente $^1/_{10}$ está acoplado en forma etérea; pero esta fracción crece a expensas de la libre si aumenta la formación de cuerpos fenólicos e indólicos que tienen su origen en los fenómenos de putrefacción intestinal.

En cuanto a los *metales alcalinos*, añadiremos que en la orina la relación $\frac{Na_2O}{K_2O}$ es igual a $\frac{64}{36}$, por lo tanto aproximadamente la misma de los alimentos. En el ayuno tiende a disminuir, porque aumenta la pérdida de K (fusión de los tejidos).

La *cal*, como hemos dicho, se elimina en gran parte por el intestino grueso. Pero su repartición entre el intestino y el riñón sigue leyes análogas a las que hemos visto para los fosfatos y la misma marcha de éstos: el aumento del aporte alimenticio de fosfatos aumenta la eliminación fecal de cal; el aumento de ácidos en el organismo determina una mayor eliminación de cal por las vías urinarias. Por lo cual el régimen animal (acidificante) aumenta la eliminación urinaria de cal, el vegetal (alcalinizante y frecuentemente rico en P) aumenta la eliminación fecal, reduciendo la urinaria. En el ayuno aumenta proporcionalmente la cal urinaria (desintegración de los huesos.) Véase también la Sección I, para lo referente al metabolismo mineral.

c) Derivados del metabolismo del nitrógeno.

Los compuestos nitrogenados producidos en el metabolismo han sido descritos extensamente en la Primera Parte, o en los procesos de su formación y transformación, en la Segunda Parte: los hemos seguido en la sangre y hasta en su eliminación renal (véase Sección I, Sección III y esta Sección, Cap. I). No nos queda más que resumirlos brevemente e indicar sus proporciones en la orina normal; las desviaciones patológicas principales se desprenden del estudio, ya hecho, del metabolismo intermedio de las proteínas y de los núcleo-proteidos, así como de lo dicho en los capítulos anteriores.

Advirtamos que, en rigor, habría que incluir entre los productos catabólicos nitrogenados, por ser los últimos términos del metabolismo de un cromoproteido, el urobilinógeno y la urobilina; también son derivados de incompleta escisión proteica, el urocromógeno y el urocromo, los cuerpos de núcleo pirrólico o indólico que dan varias reacciones cromáticas citadas en el párrafo *a*), etc.

El N total de la orina depende de la cantidad de proteínas metabolizadas; para una absorción diaria de 100 gr. de proteínas con balance perfecto, debería haber teóricamente una eliminación urinaria de $\frac{100}{6{,}25} = 16$ gr. aproximadamente de N. En general, el N oscila entre 5 y 30 gr. diarios.

¿Cómo se reparte este N total entre los distintos productos catabólicos nitrogenados? Tomando los valores medios de LAMBLING, tenemos los siguientes valores para el individuo normal:

En cada 100 gr. de N total urinario hay:

En forma de urea	gr.	82,29-81,29
» » » amoníaco	»	5,53- 5,73
» » » creatinina	»	4,46- 3,55
» » » ácido úrico	»	1,67- 1,43
» » » bases púricas	»	0,14- 0,22
» » » substancias diversas no dosificadas	»	5,91- 7,60

En un grupo de 25 jóvenes, MATHEWS obtuvo los siguientes valores medios para 24 horas:

N ingerido	gr. 13,43		
N urinario total	» 11,30		
N de la urea	» 9,30	= 82,29	% del N total
N del NH_3	» 0,49	= 4,35	» » » »
N de la creatinina	» 0,659	= 5,87	» » » »
N del ácido úrico	» 0,198	= 1,76	» » » »
N no determinado	» 0,65	= 5,73	» » » »

En esta serie de MATHEWS, 84,12 % del N ingerido han reaparecido en la orina.

La fracción más frecuentemente considerada por el médico es la ureica; en efecto, es de uso corriente la dosificación de la urea de la orina, que solamente tiene algún valor si se hace en la orina de las 24 horas y si se conoce el régimen alimenticio.

La urea representa más de los $^4/_5$ del N total, y, por lo tanto, da una idea aproximada de la eliminación nitrogenada en general. Se llama *coeficiente* o *relación azoúrica* la relación $\frac{\text{N ureico}}{\text{N total}}$ que normalmente es de unos $^4/_5$ y a veces un poco superior ($^{4,3}/_5$ o $^{4,2}/_5$). Según algunos, sería un poco mayor en los individuos sometidos a régimen lácteo (en los cuales la urea representaría más del 90 % del N total).

En algunos estados morbosos la cantidad de N ureico disminuye y crecen proporcionalmente otras fracciones nitrogenadas; por ejemplo, la acidosis presenta un coeficiente azoúrico bajo, porque está aumentado el N amoniacal, ya que el NH_3 debe servir para neutralizar los ácidos en exceso (exógenos y engódenos) y, por lo tanto, es sustraído a la ureogénesis. Así, en la acidosis (ayuno prolongado) se han encontrado hasta 26-28 % del N en forma de amoníaco, y la urea, reducida hasta representar solamente el 50-55 % del N. urinario.

Se ha considerado como característico de las enfermedades hepáticas, el descenso del coeficiente azoúrico, y se ha creído que la lesión hepática había producido una debilitación de la función ureogenética de este órgano; en realidad, en las enfermedades hepáticas graves, como en la atrofia amarilla aguda, están aumentadas ciertas fracciones nitrogenadas, especialmente los aminoácidos (en la orina pueden

encontrarse leucina y tirosina libres, que se depositan en cristales característicos visibles al examinar el sedimento al microscopio), así como la fracción amoniacal. Ahora bien, si el aumento de los aminoácidos urinarios (frecuentemente comprendidos en el N no determinado) es prueba de una insuficiencia desaminante del órgano, el aumento del NH_3 puede estar relacionado únicamente con el estado de acidosis que se produce en aquellas formas, tanto que en la orina se encuentra también ácido láctico, cetoácidos y varios ácidos grasos. Los aminoácidos mismos pueden proceder de procesos de descomposición exagerada, verdadera autolisis vital, a expensas de las proteínas del órgano. En conjunto, el coeficiente azoúrico nos ilustra poco acerca del estado funcional real del hígado.

Acerca de las variaciones en la eliminación de ácido úrico se ha hablado bastante a propósito de la gota; acerca de sus condiciones de solubilidad insistiremos también en el párrafo *f*).

También se ha estudiado la importancia de la relación que existe entre el N correspondiente a los aminoácidos y el N total: según SIGNORELLI (1) la relación $\frac{\text{N de los aminoácidos}}{\text{N total}}$ es bastante constante y crece en la autointoxicación fosfórica grave, así como en la atrofia amarilla aguda, ya citada. Normalmente se encuentra en forma de aminoácidos un 2 % del N total. En las listas anteriormente citadas esta fracción estaba incluída en el N no dosificado o indeterminado, del cual representa una porción no pequeña, pero actualmente no es difícil practicar la dosificación separada (por ejemplo, con el método por el formol).

Entre el nitrógeno no dosificado, que constituye el conjunto que algunos llaman globalmente *substancias extractivas nitrogenadas*, hay los *ácidos oxiproteínicos*, que contienen la mayor parte del S neutro, los cuales representan el 3-7 % del N total en el adulto, y aun más en el recién nacido. Estos y otros cuerpos aun mal definidos constituyen, en parte, la fracción *adializable* (HOFMEISTER y sus discípulos) o *N precipitable por el alcohol* (SALKOWSKI). Esta fracción del N, en forma de compuestos aun bastante complejos, crece siempre que las combustiones o desintegraciones intraorgánicas están retardadas o, viceversa, cuando hay una exagerada demolición proteica y algunas substancias desintegrativas son eliminadas antes de haber tenido tiempo de ser simplificadas hasta llegar a la urea y al NH_3. Las *estalagmonas*, las substancias que hacen descender la tensión superficial, citadas en la página 490, y estudiadas recientemente por GOLDWASSER (2), pueden incluirse aquí. Estos productos nitrogenados menos elaborados, aumentan (de la misma manera que aumenta el S neutro a expensas del S ácido) en el embarazo (especialmente cuando hay toxicosis gravídicas), en

(1) *Bioch. Zeitschr.*, vol. XLVII.
(2) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.*, vol. XXXVII, fasc. 3-6, 1923.

las caquexias (especialmente neoplásicas) y en varias auto- o hetero-intoxicaciones. Son también substancias de eliminación urinaria las toxinas bacterianas (1) y, naturalmente, se incluyen en la fracción nitrogenada no determinada. Adviértase, sin embargo, que el llamado coloide urinario no está constituído completamente por cuerpos nitrogenados y menos aun por productos de escisión proteica solamente. Así como existen verdaderos cuerpos del tipo de los polipéptidos cuya naturaleza coloidal es dudosa (como el urocromo), se encuentran por otra parte entre los coloides urinarios verdaderas proteínas complejas, que volveremos a encontrar en el párrafo *e*), en forma de proteína fisiológica y en forma de cuerpos precipitables en frío por el ácido acetico (mucina, núcleoproteidos o fosfoproteínas); además existen coloides no nitrogenados, como el glucógeno, o nitrogenados, pero con estructura de hidratos de carbono (Salkowski), y también se incluye entre ellos el ácido condroitinsulfúrico, que a veces se halla en la orina. Los coloides urinarios de naturaleza y origen no proteico estarían también aumentados en la fiebre, en las toxemias gravídicas, etc., según Hofmeister y sus alumnos han demostrado (2).

La escuela francesa, con Bouchard a la cabeza, da importancia a la relación entre el N total y el C total en la orina. Existen pocos cuerpos ternarios (excluyendo los casos de glucosuria); la mayoría del C pertenece a las substancias nitrogenadas. En las proteínas la relación entre C y N es como 3,43 es a 1 y puede también escribirse $\frac{C}{N} = 3{,}43$. En el producto terminal típico de la escisión proteica, la urea, hay por el contrario $\frac{C}{N} = \frac{12}{28} = 0{,}43$. Los procesos de desasimilación serán tanto más perfectos cuanto más descienda la relación $\frac{C}{N}$, aproximándose al *ideal* de la urea, cuanto más carbono sea separado y quemado en forma de CO_2, que escapa por otras vías (pulmón), y cuanta menor cantidad de C permanezca unida al nitrógeno urinario. La relación $\frac{C}{N}$ expresa el trabajo de elaboración de las proteínas alimenticias y corpóreas.

La orina tiene cierto poder tóxico *(urotoxicidad)* debido por una parte a los elementos minerales (K especialmente) y por otra a los productos de la desasimilación proteica, a la misma urea y además a las substancias nitrogenadas más completas y no bien definidas, que hemos citado hace poco; pero las conclusiones clínicas y patogénicas deducidas del estudio de esta toxicidad urinaria tienen poca importancia.

Finalmente, debemos recordar un compuesto de origen sintético, que resulta de un producto de escisión proteica unido con un ácido

(1) Bieling y Gottschalk, *Zeitschr. f. Hyg.*, vol. XCIX, 1923.
(2) Savaré, *Hofmeister's Beitr.*, vol. IX y XI: Ebbecke, *Bioch. Zeitschr.*, vol. XII.

aromático: el ácido benzoico administrado *per os* (así, por el uso sostenido de un régimen vegetal que es rico en él) reaparece en la orina en combinación con la glicocola, en forma de *ácido hipúrico* (véase página 212 y fig. 10). Administrando a un hombre sano 5 gr. de ácido benzoico en 12 horas, elimina 5 gr. de ácido hipúrico. El ácido benzoico puede también acoplarse en pequeña cantidad con el ácido glucurónico.

Esta síntesis parece que se verifica *en el riñón*. Según Snapper (1), y Snapper y Grünbaum (2), en las afecciones renales disminuiría la eliminación de ácido hipúrico, pero no por disminución del proceso sintético intrarrenal, sino por una verdadera retención; tanto es así, que el ácido hipúrico se acumularía en la sangre de los nefríticos con retención nitrogenada (véase también pág. 391).

d) Componentes ternarios.

Normalmente, en la orina de 24 horas hay 1-5 gr. de cuerpos orgánicos no nitrogenados: se cuentan entre ellos los *ácidos oxiaromáticos* y *fenoles*, ya citados en otro lugar, el *ácido oxálico* (págs. 643, 763 y 776) y el *ácido glucurónico*. El hombre elimina diariamente por la orina 0,30-0,40 gr. de ácido glucurónico, acoplado con varios compuestos indólicos y fenólicos originados en los fenómenos de putrefacción intestinal o con substancias administradas como medicamento (alcanfor, cloral, trementina, naftalina). Ya hemos hablado de él en otro lugar. Parece que se origina, en el hígado y quizá también en otros órganos, de los hidratos de carbono y quizá también de los glucoproteidos. En el reciente tratajo de Sabatini (3) están expuestos los métodos analíticos más modernos y se pone de relieve la importancia clínica de la investigación del ácido glucurónico.

En la orina normal se encuentran también pequeños indicios de *glucosa*.

En la orina puede demostrarse la presencia de *ácidos grasos volátiles;* la orina es destilada en corriente de vapor, preferentemente previa acidificación con ácido fosfórico (4), y el destilado es valorado con NaOH $\frac{n}{10}$. La cantidad de estos ácidos grasos volátiles oscila mucho; quizá aumenta si en el cuerpo se desarrollan procesos diversos de putrefacción; principalmente parece estar en relación directa con la cantidad de orina (Molnar); está muy aumentada en el ayuno prolongado. Si en la orina hay ácido β-oxibutírico, es incluído en la cifra de los ácidos volátiles en la orina de 24 horas; en efecto, este ácido pasa al destilado, descomponiéndose en ácido crotónico y agua.

(1) *Klin. Woch.*, 1924, n.° 2.
(2) *Id.*, 1924, n.° 3.
(3) *Policlinico*, sec. med., 1920.
(4) Molnar, *Zeitschr. f. exper. Pathol. und Ther.*, 1909.

Cantidad de estos ácidos grasos volátiles (expresada en hidrato sódico $\frac{n}{10}$) : 214-91 (a veces también 316-235-226).

Los compuestos ternarios más importantes son los *azúcares*, que se encuentran en la orina en varias formas de *hidraturia* (pág. 571). Aquí queremos solamente exponer algunas consideraciones esencialmente metódicas y prácticas acerca de la investigación de los azúcares, y especialmente de la *glucosa en la orina*.

Si la orina es albuminosa, hay que desalbuminarla (ebullición de la orina, cuya reacción es ligeramente ácida, naturalmente o por adición cuidadosa de un poco de ácido acético : la precipitación debe tener lugar en grandes copos : filtrese después). Es muy útil practicar la investigación del azúcar en una orina defecada con acetato de plomo: 50 cc. de orina, tratados por 5 cc. de acetato de plomo, que arrastra varias substancias perturbadoras ; sin embargo, es necesario procurar que la orina sea ácida durante este tratamiento, pues de otro modo el azúcar es arrastrado con el precipitado. Se filtra y el filtrado se priva del plomo añadiendo lentamente fosfato básico de sodio (Na_2HPO_4) hasta que no se forne más precipitado. Se filtra otra vez y se obtiene así un líquido límpido e incoloro, apropiado para la reacción de reducción.

Es siempre conveniente *diluir las orinas muy concentradas*, para diluir algunas substancias débilmente reductoras, capaces, si son muy abundantes, de simular las reacciones de que tratamos.

Los procedimientos que pueden emplearse en la orina para la investigación del azúcar son los siguientes : las *reacciones de reducción*, la *reacción con la fenilhidracina*, la *fermentación* y la *polarimetría*. El método de la fermentación es el más seguro, si se ejecuta con orina bien ácida para excluir el error que deriva de la fermentación amoniacal (acidular en caso necesario con un poco de ácido tartárico) con una levadura muy activa (levadura prensada del comercio, bien desmenuzada) y exenta de azúcar (en caso necesario lavarla bien y comprobarla) y si el desprendimiento de gas CO_2 (en una bureta invertida en forma de bureta eudiométrica sobre un recipiente lleno de orina, o, mejor, en los tubos apropiados para estos ensayos de fermentación, parecidos a los que también se emplean en Bacteriología) es rápido, en las primeras horas. Ya hemos visto qué azúcares fermentan (glucosa, levulosa y maltosa) y cuáles no (lactosa, isomaltosa, pentosas).

La reacción con la fenilhidracina determina la formación de osazonas cuya forma y *punto de fusión* son característicos para cada azúcar ; véase página 55.

En la práctica las reacciones de reducción son las más usadas, tanto como métodos cuantitativos, cuyo tipo es el clásico de FEHLING y sus derivados (para los cuales nos remitimos a la Parte III), como para el examen cualitativo, pues tienen la ventaja de la rapidez. La *reacción de* TROMMER o prueba de la reducción del sulfato de cobre se realiza de la manera siguiente : se añade a la orina un tercio

de su volumen de solución de sosa o potasa cáustica y luego, gota a gota, una cantidad tal de solución al 1 : 10 de $CuSO_4$ que sólo quede un *pequeño exceso* de precipitado azul sin disolver. En efecto, el $CuSO_4$ reacciona con la NaOH y forma $Cu(OH)_2$, hidrato de cobre azul intenso, que se disuelve comunicando un hermoso color azul al líquido, y se disuelve en tanta mayor cantidad cuanto mayor sea la proporción en la orina o en otro líquido, de substancias orgánicas abundantemente hidroxiladas (azúcares, tartratos, etc.) capaces de mantenerlo en solución. En efecto, en la orina con azúcar se necesita siempre una adición mayor de $CuSO_4$ para llegar al exceso insoluble de hidrato cúprico. Con la ebullición el $Cu(OH)_2$ es reducido por el azúcar a Cu_2O (oxídulo de cobre u óxido cuproso) que produce el característico precipitado rojo ladrillo o amarillento. *Esta propiedad reductora no es exclusiva del azúcar;* en la orina normal se encuentran varias substancias de acción reductora, acentuada especialmente si estas substancias están muy concentradas (orinas muy densas). Así, muchas veces se ve que el color azul del hidrato cúprico es sustituído con la ebullición por un color amarillo sucio sin precipitado evidente ; se trata de una reducción limitada del hidrato cúprico, debida a varios constituyentes normales en la orina y de propiedades reductoras, que conduce a la formación de un poco de oxídulo, que, sin embargo, es escaso y puede ser mantenido en solución por estos mismos cuerpos. Puede también suceder que estas orinas normales dejadas enfriar después de la prueba, hagan *tardíamente* (aun después de bastante tiempo del enfriamiento) precipitar esta pequeña cantidad de oxídulo que se ha formado : entonces hay una verdadera reacción completa, con *precipitado amarillo-rojo de oxídulo*, pero que, por ser tardía, no tiene ningún valor para afirmar la glucosuria. Ciertamente la diferencia, en el fondo, es solamente de intensidad : la reacción que debe considerarse verdaderamente positiva para el azúcar es la que produce una *reducción* del hidrato cúprico a óxido cuproso con *separación inmediata* de éste.

Si la glucosa existe en pequeña cantidad y hay abundancia de substancias aptas para mantener disuelto el óxido (como especialmente la creatinina), puede haber también una precipitación un poco tardía, por ejemplo, *inmediatamente después* del enfriamiento.

La dilución de la orina es frecuentemente útil para hacer más sensible la reacción, porque convierte en menos concentradas las substancias que mantienen el óxido en solución ; estas substancias pueden ser también absorbidas por el carbón animal y extraídas. La albúmina es una de las substancias que inhiben la precipitación y que disminuyen la sensibilidad de la reacción.

Para descubrir pequeñas cantidades de glucosa, es excelente el método de COLE (1) : en un tubo se pone 1 gr. de carbón animal puro Merck, se añaden 10 cc. de orina y se agita ; se hierve, agitando siem-

(1) *Lancet*, 1913.

pre y se enfría bajo el grifo, agitando también. Se filtra a través de un pequeño filtro y se recoge en otro tubo que contenga 1/2 gr. de carbonato sódico anhidro; después se añaden al filtrado 6 gotas de glicerina pura, se agita y se hierve durante 50 segundos exactos. Se añaden inmediatamente 4 gotas de solución al 5 % de sulfato de cobre cristalizado. Se agita lo preciso para mezclar y se deja en reposo durante un minuto. Si la orina es normal, el líquido permanece azul, con un pequeño precipitado gris de fosfatos terrosos. Si hay glucosa de 0,02 % en adelante (por lo tanto, más que lo normal), se forma el precipitado amarillo de hidrato cuproso; éste aparece tanto más pronto cuanto más abundante es la glucosa. Si el precipitado amarillo aparece después de 60 segundos, no tiene valor diagnóstico, pudiendo ser debido a los indicios normales de glucosa. Este es un método sensibilísimo y que no da resultado positivo (como sucede con el FEHLING o con el TROMMER) si la orina contiene cloroformo o muchos glucuronatos. Nótese que en estas condiciones el carbón adsorbe la lactosa (mejor si se hacen dos tratamientos sucesivos con carbón en menor cantidad, 1 gr. para 20 cc. de orina) y no la glucosa; por lo cual el método sirve para distinguir los dos azúcares.

La *prueba de* NYLAENDER consiste en la reducción del subnitrato de bismuto ($NO_3Bi(OH)_2$) en medio fuertemente alcalino.

El reactivo (1) corrientemente usado se conserva en la oscuridad y se emplea a la dosis de 1/10 del volumen de orina: es característico el precipitado negro de óxido de bismuto que aparece durante la ebullición (no demasiado corta); el simple ennegrecimiento *tardío*, después del enfriamiento, del precipitado de fosfatos, que se forma siempre que se calientan orinas fuertemente alcalinas, nada significa. Pero también en este caso la diferencia es de intensidad, y el azúcar no es más que la más pronta y enérgica de todas las substancias reductoras contenidas en la orina. La albúmina puede dar un precipitado oscuro (de sulfuro de Bi) con el reactivo, que puede inducir a error.

La *reacción de* NYLAENDER es más específica que la de TROMMER; cuando el resultado de ésta es dudoso, la primera puede aclarar la naturaleza de las substancias reductoras. Así, de los componentes normales de la orina, varios pigmentos pueden también colorear el precipitado de fosfatos terrosos producido en la reacción de NYLAENDER; el ácido glucurónico, si es abundante, puede reducir (así, después de la absorción de sen, ruibarbo, etc., puede haber una reducción de la sal de Bi, por la abundancia de ácido glucurónico, especialmente si se hierve durante mucho tiempo); pero el ácido úrico, la creatinina y el urobilinógeno no dan generalmente la reacción, por lo menos no acostumbran (en las concentraciones más corrientes) a reducir sensiblemente la sal de Bi, mientras que, por el contrario, estos componentes normales pueden reducir con mayor facilidad las sales de Cu y dar una ligera *reacción de* TROMMER.

Véanse detalles en la Parte Primera.

(1) El *reactivo* de NYLAENDER se prepara así: 4 gr. de sal de SEIGNETTE (tartrato sódico-potásico) se disuelven, calentando ligeramente, en 100 cc. de sosa cáustica al 10 %; en este líquido se disuelve luego la mayor cantidad posible de subnitrato (unos 2 gr.). Dejar enfriar bien y filtrar por lana de vidrio. Dura varios años.

e) ALBUMINURIA.

En la orina normal existen indicios (0,05 gr. por litro) de proteínas que se sustraen a la investigación por las pruebas corrientes, hasta con la más sensible, que es la *prueba de* HELLER (disponer la orina formando capa sobre ácido nítrico concentrado: formación de enturbiamiento y de un anillo, que no desaparece calentando), pero pueden demostrarse si se concentra la orina y luego se trata con el reactivo de SPIEGLER (1). Prescindiendo de estos indicios normales, la orina puede contener proteínas, *reconocibles con los métodos corrientes*, y ésta es la norma empírica que hace distinguir la proteinuria mínima fisiológica de las proteinurias que ya no son fisiológicas y que van de las formas llamadas *funcionales*, *cíclicas* y *ortostáticas* a las formas claras de las enfermedades renales. Muchos denominan, creando una confusión evidente, albuminuria fisiológica a la subsiguiente, en ciertas personas, a un exceso o a un baño frío, a la llamada de los adolescentes, a la ortostática, etc., porque el fenómeno de la albuminuria no va acompañado de otros signos de lesión renal; pero el término de albuminuria fisiológica debe reservarse para la presencia normal, comprobable en todas las orinas, de indicios de proteínas. Por el contrario, las albuminurias del tipo de las periódicas y ocasionales, como las cíclicas, funcionales, etc., aunque no sean consecuencia de una seria lesión renal, no son fisiológicas, incluso porque son bastante raras: el criterio estadístico tiene también algún valor para definir lo que es fisiológico o patológico. Corresponderían a una anomalía funcional del riñón, más que a una verdadera enfermedad; representarían un ligero grado de inferioridad funcional y tendrían un pronóstico benigno, pero no son un hecho fisiológico. Muchas de estas formas, que están en los confines de la patología, se hallan en relación con modificaciones circulatorias del riñón; así con estasis por lordosis vertebral en el caso de algunas formas ortostáticas en los jóvenes (2); y lo mismo puede

(1) Es uno de los reactivos más sensibles para las proteínas: 20 gr. de sublimado, 40 gr. de ácido succínico, 20 gr. de NaCl y 1000 cc. de agua. Para emplearlo en la orina, con fines clínicos, es necesario acidular primero ésta con ácido acético, para separar los cuerpos proteicos (véase más adelante) precipitables en frío por el ácido acético, filtrar luego y echar el reactivo sin mezclar: enturbiamiento en el anillo de separación. Pero la prueba es *demasiado sensible* para los fines clínicos, porque muchas veces las orinas normales, hasta sin previa concentración, dan reacción positiva.

(2) IEHLE en una monografía *(Die Albuminurie*, Berlín, 1914) ha sostenido el origen de la albuminuria ortostática en la lordosis con el consiguiente trastorno circulatorio. BECKMANN y SCHLEYER *(Münchn. med. Woch.*, 1918, n.° 27) han sostenido que a veces la albuminuria ortostática desaparece con la inyección de atropina, lo cual haría pensar en un origen nervioso, y hasta en su dependencia de un tono

decirse de ciertas albuminurias gravídicas benignas. Además entran frecuentemente en juego factores constitucionales, que implican quizá un « locus minoris resistentiae » en el riñón. Se ignora la significación de la albuminuria, no rara, de los recién nacidos. En general las proteínas que se encuentran en la orina en las distintas formas de albuminuria, tanto en las más benignas como en las formas claramente patológicas, son proteínas del plasma sanguíneo : globulinas y albúmina (rara vez fibrinógeno, que coagula en forma de fibrina y que aparece generalmente cuando hay una entrada directa de sangre en las vías urinarias, por lo tanto *hemorragia* renal e infrarrenal). La seroalbúmina y la seroglobulina se encuentran en la orina en proporción distinta que en el plasma : también en este caso se llama *cociente proteico* la relación $\frac{seroalbúmina}{seroglobulina}$, que es generalmente igual a 1,5-2,3 y que no presenta modificaciones características en relación con el curso de la afección renal, excepto quizá el aumento en las esclerosis progresivas del órgano, debido notablemente a la permeabilidad cada vez menor de las paredes vasculares, que se alteran progresivamente, para la globulina plasmática menos dispersa.

Pueden haber también en la orina albúminas extrañas al medio orgánico interno, si éstas han penetrado y circulan por la sangre ; así, si en la sangre se inyecta ovoalbúmina o ésta penetra en ella desde el tubo digestivo por insuficiencia de los poderes digestivos y permeabilidad anormal de la pared intestinal, puede aparecer dicha proteína en la orina. En efecto, Lust (1), con administración oral de grandes cantidades de ovoalbúmina (dos claras de huevo), logró obtener la eliminación renal de esta proteína hasta en lactantes sanos ; con mayor facilidad se obtiene en los lactantes que sufren trastornos agudos de la digestión. Esta rápida eliminación de una proteína heteróloga encuentra analogía con la eliminación de proteínas o derivados proteicos anormales, no heterólogos, pero también extraños al medio sanguíneo normal, como el *cuerpo de* Bence-Jones (véase *proteinuria de* Bence-Jones, pág. 628). En estos casos, es el riñón normal el que es permeable a los cuerpos extraños a la composición normal de la sangre, o bien estos cuerpos lesionan el riñón, reactivo muy sensible a todo lo que altera las propiedades químicas y físicas de la sangre, y entonces el riñón adquiere permeabilidad para estos cuerpos. Esta segunda posibilidad se hace más verosímil por el hecho de que frecuentemente, cuando el riñón elimina estos albuminoides anormales, elimina al mismo tiempo proteínas plasmáticas ; es decir, que la albuminuria verdadera y propia acompaña frecuentemente a la albuminuria nutritiva y a la albumosuria o proteinuria de Bence-Jones, revelando una alteración simultánea del comportamiento renal ordinario respecto a las proteínas normales del plasma, comportamiento que normalmente es el de una casi absoluta impermeabilidad. Puede preguntarse si la albuminuria representa una simple trasudación de los constituyentes coloidales del plasma o un verdadero proceso activo de secreción. Son quizá ciertas las dos opiniones ; es natural que si existen lesiones flogísticas de los vasos, con aumento de la permeabilidad de sus paredes para las proteínas plasmáticas y al mismo tiempo destrucción del epitelio tubular, las proteínas puedan pasar sencillamente al contenido tubular y, por lo tanto, a la orina. Por otra parte, existen casos en los cuales se ha visto que los agentes diuréticos aumentaban la albuminuria : he aquí, según algunos, un argumento en favor de una verdadera secreción activa de la albúmina, aun cuando podría objetarse siempre que muchos diuréticos obran modificando también las condiciones circulatorias, y no siempre y solamente por acción directa sobre los elementos secretores.

parasimpático aumentado (que la atropina podría corregir). No parece dudoso que puedan existir albuminurias de origen nervioso, habiéndose observado después de una conmoción cerebral, en casos de tumores cerebrales y hasta por efecto de emociones intensas.

(1) *Jahrb. f. Kinderheilk.*, vol. LXXVII, 1913.

De todas maneras, parece que tanto los glomérulos como los tubos pueden dejar pasar albúmina ; los primeros son quizá los que intervienen en las formas ligeras, situadas todavía en los confines de la normalidad, mientras que la verdadera albuminuria nefrítica está en relación (según los casos) con lesiones tubulares o glomerulares.

Debemos también citar los *cuerpos proteicos precipitables en frío en la orina por el ácido acético ;* si primero se diluye la orina (para diluir los uratos e impedir que luego precipiten al acidular y estorben la reacción) y después se trata por un exceso de ácido acético concentrado, se nota frecuentemente un enturbiamiento que no tiene ningún significado patológico : es debido a *mucina* y *mucoides*, así como a cuerpos del tipo de los *núcleoproteidos*, que representan derivados de las células renales y de los epitelios de la mucosa de las vías urinarias. Fisiológicamente los mucoides forman ya, sin ningún tratamiento y por el simple reposo de la orina, la llamada *nubécula;* pueden aumentar a causa de un catarro de las vías urinarias. Sin embargo, es cierto que de la destrucción de los epitelios renales derivan también cuerpos del tipo de los glucoproteidos y núcleoproteidos que, escasos normalmente, crecen en las afecciones con extensa degeneración o necrosis de estos epitelios. Estos cuerpos contribuyen, con las proteínas de origen hemático, a dar las reacciones corrientes de la albúmina (p. de Heller, prueba de la ebullición).

Por lo que se refiere a estas reacciones de uso corriente, lo dicho en la Parte Primera de este libro basta para hacer comprender su naturaleza y las causas de error. Nunca se criticará bastante el sistema de añadir a una orina, ya ácida de por sí, ácido acético, *antes* de hacer la prueba de la ebullición : frecuentemente se rebasa así el punto isoeléctrico de las proteínas, y éstas, principalmente si son escasas, no precipitan (pág. 119). Es necesario comprobar primero la reacción : si ésta es alcalina, corregirla ; si es ácida, hervir sencillamente ; si el resultado es negativo, *entonces* se acidula con precaución

(con ácido acético diluído al 1 : 10) y se continúa hirviendo. Es conveniente aumentar la cantidad de sales neutras, añadiendo NaCl (por ejemplo 1/6 en volumen de una solución al 30 % de esta sal); entonces se puede acidular más fuertemente y hervir (puede obtenerse un precipitado en frío de albumosas, soluble en caliente).

Entre las pruebas *en frío*, la ya citada de HELLER (disponer la orina formando capa sobre ácido nítrico) es una de las más aconsejables: solamente un precipitado de ácido úrico, pero de *aspecto cristalino y bien soluble en caliente*, puede alguna vez inducir a error, y también puede inspirar algunas dudas el precipitado coposo que se forma cuando el individuo ha tomado substancias resinosas o balsámicas (que puede aislarse para ver si es soluble en alcohol: el precipitado albuminoideo no lo es, pero sí el de las resinas). Una prueba, que es también sensible, es la del ácido acético (fuerte acidificación) y ferrocianuro potásico (solución al 1 : 10, añadida a gotas): sólo se obtiene precipitado en presencia de proteínas, de cuerpos del grupo de los precipitables en frío con ácido acético o de albumosas; pero los cuerpos precipitables en frío con ácido acético son fácilmente diagnosticables aparte, y el precipitado de albumosas se caracteriza por la solubilidad en caliente.

La *albumosuria* y *peptonuria* se presentan cuando en el organismo tienen lugar grandes destrucciones proteicas, grandes proteolisis a expensas de tejidos normales o patológicos (puerperio, con involución uterina; fiebre, procesos supurativos, envenenamiento por el fósforo, atrofia aguda del hígado, crisis pneumónica), o cuando por insuficiencia de la barrera entero-hepática penetran en la circulación grandes cantidades de albumosas y peptonas de origen alimenticio. Por lo demás, muchas albuminurias van acompañadas de una albumosuria que, sin embargo, no es primitiva, sino secundaria y debida a una modificación de las proteínas urinarias por la acción de una pequeña cantidad de fermentos, que nunca faltan en la orina; los proteolíticos pueden estar aumentados si en la orina existen células de pus (leucocitos); por lo tanto, como advierte SAHLI, la albumosuria tiene interés clínico solamente si no sigue a una albuminuria común.

Digamos también algo de los *cilindros* urinarios, cuya composición es proteica, pero no bien definida; se trata a veces de productos de coagulación de las proteínas derivadas de las células epiteliales necrosadas o de proteínas trasudadas de los vasos. Los cilindros granulosos tienen quizá especialmente un origen necrótico; los hialinos, un origen trasudativo, de significación mucho menos grave. En el fondo los cilindros podrían considerarse como una fracción patológica de los coloides urinarios, ya citados a propósito de la fracción no dosificada del N urinario. Queremos añadir que, según M. H. FISCHER (1), los distintos aspectos de los cilindros (hialinos, granulosos, etc.) dependen de la riqueza de la orina en H' o en OH', y que con simples variaciones de reacción pueden *transformarse cilindros hialinos en granulosos, y viceversa*. PETERDORF (1) confirmaría en parte estos datos, aun cuando encuentra que los cilindros hialinos obtenidos artificialmente de los granulosos difieren de los naturales por algunos caracteres. El médico tendrá presente que los cilindros en la orina alcalina se hinchan y desaparecen pronto. Finalmente, hay cilindros *celulares* (de hematíes, leucocitos, epitelios), *cristalinos* (de uratos, etc.), de los que no podemos ocuparnos aquí.

(1) *Oedema a. Nephritis*. Wiley, New York, 1921.

f) SEDIMENTOS NO ORGANIZADOS Y CÁLCULOS URINARIOS.

Muchos constituyentes urinarios pueden depositarse, formando un precipitado de carácter pulverulento, un *sedimento*, constituído por formaciones cristalinas o por masas amorfas no coherentes entre sí, o bien formando concreciones sólidas, compactas, de dimensiones a veces notables: los *cálculos*. El primer proceso, la precipitación granular amorfa o más frecuentemente cristalina, pero siempre no coherente, puede realizarse en la orina normal fuera del cuerpo, más o menos tiempo después de la emisión, y puede tener lugar en las mismas vías urinarias, generalmente sin consecuencias locales dignas de consideración. Por el contrario, el proceso de la formación de verdaderas concreciones y cálculos, tiene lugar siempre y exclusivamente en las vías urinarias y es un verdadero proceso patológico.

Los sedimentos pueden estar formados:

por *uratos amorfos* (de sodio, potasio, calcio, magnesio; predominantemente de sodio) o a veces *cristalinos* (de urato amónico, constituyendo frecuentemente esferocristales). Todos, a excepción del urato amónico, precipitan solamente en las *orinas ácidas*, y es característico el *sedimento color de ladrillo* de uratos, que se separa cuando se enfrían las orinas concentradas y se colorea en rojo ladrillo por la uroeritrina. Toda orina de gran peso específico, preferentemente ácida, mantenida en un sitio fresco, puede separar este sedimento al que no puede darse ninguna significación diagnóstica especial. Estos sedimentos uráticos se disuelven calentando o alcalinizando la orina. Si después se acidula, pueden hacerse aparecer cristales de ácido úrico;

por *cristales de ácido úrico*, de aspecto variable, frecuentemente en forma de manubrio, de roseta, de agujas, de tabletas, también muchas veces coloreados (fig. 11); siempre en *orinas ácidas*. Tampoco tienen gran significado diagnóstico: indican solamente que la orina es concentrada y muy ácida;

por *cristales de oxalato de calcio*, con el aspecto típico de sobre de cartas (aunque no siempre), insolubles en ácido acético, solubles en HCl; se forman en orinas más o menos claramente ácidas o neutras, a veces también en orinas alcalinas (fig. 12). No indican siempre un aumento de la formación de ácido oxálico en el organismo, sino que pueden indicar una ingestión de ácido oxálico preformado con los ali-

(1) *Inaugural Dissertation*. Kiel, 1921.

mentos (cacao, tomates, judías, alcachofas, espinacas, etc.) y más comúnmente una simple modificación de las condiciones de solubilidad del oxalato cálcico, que normalmente es mantenido en solución por los fosfatos ácidos o monometálicos, pero que puede precipitar, si estos fosfatos disminuyen, sustituídos por fosfatos bimetálicos, con disminución de la acidez urinaria ;

por *carbonatos y fosfatos térreos ;* son, junto con los cristales de urato amónico, el sedimento más común de las *orinas alcalinas*. Pueden ser amorfos, como lo son los sedimentos de fosfato (y carbonato) de

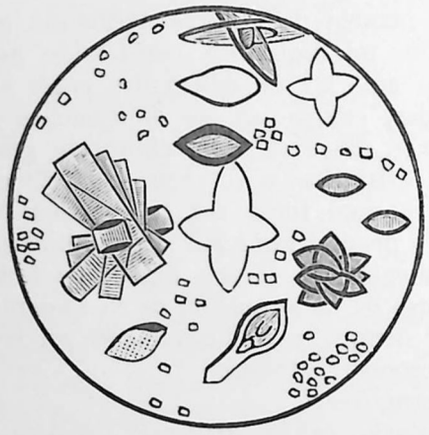


FIG. 11. Cristales de ácido úrico (en la orina)

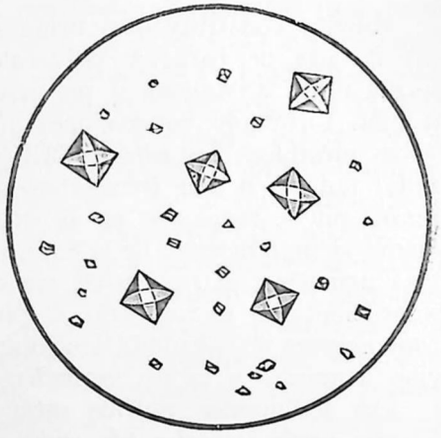


FIG. 12. Cristales de oxalato de cal

Ca y Mg, que se forman en la vejiga en la llamada *fosfaturia ;* se separan calentando orina normal, o de reacción débilmente ácida, alcalina o neutra ; y pueden separarse también por la alcalinización en frío. En efecto, los fosfatos se encuentran en forma de *fosfatos alcalinos* (de los cuales ya hemos hablado : son primarios, secundarios, o terciarios, y todos solubles) o en forma de *fosfatos alcalino-térreos*, esto es de Ca y de Mg. Estos últimos son de los tipos siguientes :

$Ca(H_2PO_4)_2$	$CaHPO_4$	$Ca_3(PO_4)_2$
Fosfatos térreos primarios (monometálicos)	Fosfatos térreos secundarios (bimetálicos)	Fosfatos térreos terciarios (trimetálicos)

De éstos solamente los primarios son solubles ; los secundarios y terciarios, no. Si la orina se vuelve más rica en metales alcalino-térreos (Ca y Mg), no en sentido absoluto, sino *en relación con la disponibilidad de ácido fosfórico*, habrá formación de fosfatos secundarios y terciarios insolubles, a expensas de los primarios : he aquí como una gran precipitación de fosfatos no indica precisamente un exceso de ácido fosfórico, sino, y con mayor probabilidad, un exceso de los metales bivalentes de que tratamos. La alcalinización facilita la precipitación,

porque los álcalis (generalmente sosa, potasa o NH_3) sustraen fosfationes para formar fosfatos alcalinos y, por lo tanto, transforman fosfatos térreos primarios en secundarios y terciarios, que contienen relativamente menos ácido fosfórico. El calor obra también favoreciendo la transformación de los fosfatos de Ca y Mg primarios en secundarios y terciarios.

Si la reacción alcalina de la orina se debe al carbonato de NH_3, originado en la fermentación amoniacal de la orina fuera o dentro de la vejiga, con la correspondiente transformación de la urea, entonces los fosfatos precipitan en forma de cristales (frecuentemente en forma de tapa de ataúd, pero también en otras formas) del llamado *fosfato triple* o fosfato amónico-magnésico: $(NH_4)MgPO_4$. Estos, junto con los cristales esféricos (con apéndices radiados) o estrellados de urato amónico, son los cristales propios de la orina que sufre la fermentación amoniacal (fig. 13). Citemos, además, los cristales de fosfato dicálcico (en forma de prismas o pirámides) en orinas apenas ácidas o neutras, y los pequeños, en forma de manubrio, de sulfato de cal y de carbonato de cal. Los fosfatos que precipitan por el calor no deben inducir a un error grosero y tomarse por albúmina : se disuelven inmediatamente por ligera acidificación.

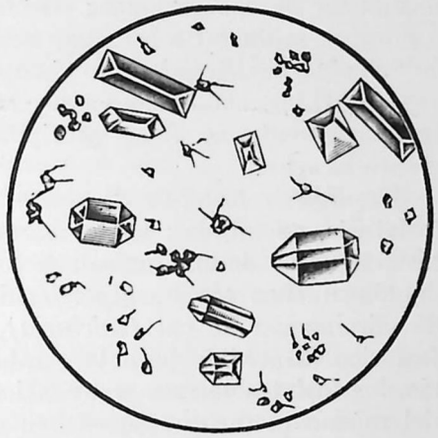


FIG. 13. Sedimento de fosfato triple y de urato amónico

Digamos ahora algo acerca de los cálculos, cuya formación constituye la enfermedad conocida con el nombre de *litiasis urinaria*. Podemos eliminar los llamados *cálculos secundarios*, porque su génesis es una consecuencia bastante clara de procesos morbosos (retención, infección) que se desarrollan en las vías urinarias y que conducen a la fermentación amoniacal de la orina, con transformación de la urea en carbonato amónico por efecto de las bacterias. En este caso, en las vías urinarias (generalmente en la vejiga) tiene lugar la formación de un precipitado de fosfato amónico-magnésico y de carbonato de Ca, de la misma manera que se verificaría en la orina fuera del cuerpo ; cabe solamente preguntarse, por qué los sedimentos cristalinos o amorfos se concrecionan formando un cálculo, en vez de permanecer como polvo incoherente ; puede encontrarse la explicación en los procesos exudativos que suelen presentarse en estos casos en las vías urinarias con producción de masas coloidales reversibles o no (como la fibrina) que en cierta manera sirven de cemento y hacen más compactas a las concreciones (véase también más adelante).

Son más difíciles de explicar los *cálculos primarios*, que se forman

también en vías urinarias primitivamente sanas y que resultan de modificaciones de la capacidad de la orina para mantener en solución varios constituyentes urinarios, que pueden ser componentes anormales cualitativamente (cistina) o cuantitativamente (sales calcáreas, oxalatos), o constituyentes del todo normales tanto en calidad como en cantidad (como a veces los uratos). Algunos hablan en estos casos de diátesis urinaria, y precisamente de una diátesis de aminoácidos *(cistinuria)*, otra de fosfatos, otra de oxalatos y otra de uratos y ácido úrico.

La *cistinuria*, ya citada en la página 627, no siempre da lugar a la formación de concreciones; en efecto, a veces la cistina está disuelta o produce sedimentos escasos, con los cristales característicos en forma de tabletas hexagonales (no siempre: a veces aciculares). No son bien conocidas las condiciones que la hacen precipitar en concreciones. Ordinariamente se hace precipitar acidulando y evaporando lentamente la orina.

La *diátesis fosfática* de ciertos autores (UMBER) no es más que la fosfaturia ya citada; sin embargo, aquélla no tiene como característica el exceso de eliminación de fosfatos, sino la escasa acidez urinaria, debida muchas veces a hiperclorhidria gástrica y, sobre todo, el exceso de eliminación de cal *(calciuria)*, por lo menos en relación al ácido fosfórico disponible para la combinación de esta base; en consecuencia, los fosfatos térreos secundarios y terciarios precipitan en la vejiga, del mismo modo que sucede en el tubo de ensayo por alcalinización y calentamiento. La relación $\frac{P_2O_5}{CaO}$ está, por lo tanto, notablemente disminuída en estos individuos (en el individuo normal es aproximadamente de 42 : 1; en el fosfatúrico puede ser, según UMBER, de 29 : 1). ¿Pero por qué no todos los fosfatúricos se vuelven calculosos? Deben intervenir a veces factores especiales que favorecen la precipitación intravesical formando una concreción compacta de fosfatos térreos (véase más adelante). Se comprende que la terapéutica de la diátesis fosfatúrica debe apoyarse en el empleo de un régimen acidificante (cárneo), no demasiado rico en cal (por lo tanto sin huevos, leche, tubérculos), y en el uso de aguas aciduladas, de ácido fosfórico diluído tomado a gotas y de medicamentos aptos para disminuir, cuando sea necesario, las pérdidas de valencias ácidas por el estómago.

La *oxaluria* solamente puede ser causa de calculosis cuando existen condiciones para la precipitación del ácido oxálico en forma de oxalato de calcio; de otra manera la orina normal mantiene disueltas, en forma de oxalatos alcalinos, las pequeñas cantidades de ácido oxálico de origen alimenticio o endógeno. Los fosfatos ácidos y las sales de Mg son los mejores agentes solubilizantes para el oxalato de calcio, que es insoluble en agua pura. Por lo tanto, los cálculos bastante duros de oxalato tienen probabilidades de formarse, si existe una oxaluria alimenticia y endógena algo considerable: 1.°, si abunda la cal, que se combine con el ácido formando oxalato cálcico; 2.°, si son escasos los fosfatos monometálicos y las sales de magnesio. He aquí por qué la terapéutica dietética debe consistir en limitar la aportación de cal (con la leche y los huevos) y de ácido oxálico (págs. 643 y 763) y en aumentar los fosfatos (dando carne, según UMBER; pero este consejo no parece exento de crítica, porque de la glicocola y de la creatina podría, también, formarse ácido oxálico). Debe dar un resultado útil la administración de magnesia.

Finalmente, encontramos la *calculosis más corriente*, que es la *úrica* o *urática*. Actualmente ya no se tiende a ponerla en relación genética con la gota, y en realidad el gotoso retiene frecuentemente el ácido úrico y no lo elimina en exceso, y, por otra parte, no son las cantidades excesivas de este ácido y de sus sales en la orina las que conducen a la precipitación máxima en las vías urinarias, sino las modificaciones de su solubilidad. Sin embargo, no puede excluirse la influencia de causas hereditarias y constitucionales oscuras, en la génesis de varias formas de calculosis, pero especialmente de ésta.

Ante la litiasis en general, y en particular ante la úrica, cuyo substrato, el ácido úrico y sus sales, vemos precipitar con tanta facilidad en la orina fuera del cuerpo, sería preferible preguntarnos cuáles son los factores solubilizantes normales, que no cuáles son los factores patológicos precipitantes.

Hemos dicho ya que una parte de los 0,50 gr. de ácido úrico, contenidos por término medio en la orina diaria, se encuentran en forma de ácido libre y otra parte en forma de sal monosódica, y que la proporción respectiva depende de la reacción de la orina, pues aumenta la cantidad combinada cuando la orina se alcaliniza. Puede tenerse por cierto que esta cantidad, aunque pequeña, de ácido úrico no podría estar en disolución en agua pura: un litro de agua a 38° disuelve solamente 65 mgr. de ácido úrico libre, menos de lo que existe en muchas orinas; respecto a los uratos, disolvería la cantidad presente en la orina, si no existiesen, como hay en la orina, otras sales con un ión común (por ejemplo el NaCl, abundante, con el ión Na' común con el urato monosódico), los cuales hacen retrogradar la disociación y, por lo tanto, disminuyen la solubilidad del urato monosódico. Por lo tanto, la orina normal debe contener *factores solubilizantes;* LICHTWITZ (1) en un sentido y SCHADE (2) en otro, piensan en factores coloidales (véase también todo lo dicho en la Parte I, pág. 173, acerca de la solubilidad del ácido úrico).

ZOIA había notado ya que la orina albuminosa no dejaba precipitar el sedimento de uratos y de ácido úrico, después del enfriamiento: ahora bien, las proteínas no representan más que un aumento de la fracción urinaria coloidal. LICHTWITZ, fijándose en que la orina está sobresaturada respecto a todas las sales más corrientemente formadoras de cálculos (uratos, oxalatos, etc.), ha hecho el siguiente expe-

(1) *Ergebn. d. inn. Med. u. Kinderheilk.*, vol. XIII.
(2) Véase el libro varias veces citado.

rimento : no puede obtenerse una solución artificial de los componentes urinarios citados, con la concentración de la orina, porque aparece pronto la precipitación; pero basta emplear agua con un 1 % de gelatina para que pueda obtenerse de una manera estable esta especie de orina artificial. Los coloides normales, nitrogenados o no, ya citados, y los patológicos, son, pues, según LICHTWITZ, la causa de la estabilización del ácido úrico, de los uratos, oxalatos, etc. La orina tiene un *índice de oro* como todos los coloides que, sin embargo, no está en relación precisa con el peso del residuo seco de la fracción que queda por diálisis, y presenta solamente un paralelismo aproximado con la aptitud de la orina para mantener disuelto el ácido úrico más allá del límite de saturación.

KOHLER (1) niega, por otra parte, la importancia de los coloides para mantener la sobresaturación del ácido úrico y de los uratos, y también, para la formación de las concreciones fosfáticas, pone en duda los factores coloidales que, según LICHTWITZ, tendrían una importancia fundamental.

Hay en conjunto una gran confusión de opiniones y hasta de interpretación de los trabajos experimentales. Basta, por ejemplo, observar que la importancia de la tensión superficial en el sistema : orina-pared de las vías urinarias es diversamente interpretada. Así, LICHTWITZ dice que normalmente la orina no moja las paredes en cuestión, como si la tensión superficial en aquel sistema fuese muy elevada (como, por ejemplo, en el sistema : mercurio-cristal ; o en otro constituído por : agua-cristal embadurnado con grasa) y que todo lo que obra respecto a la orina como pared *extraña* (por ejemplo, un coágulo, un cuerpo extraño, un punto alterado cualquiera de la mucosa) actúa como *núcleo* de un cálculo, porque adsorbe más o menos coloides urinarios, atenúa su acción protectora o estabilizadora y determina allí, hasta con orinas *perfectamente límpidas* (porque el sedimento no es un precursor necesario del cálculo), la precipitación de la concreción. En cambio, SCHADE dice precisamente lo contrario : la orina adhiere uniformemente a las paredes de las vías urinarias, por la baja tensión superficial en el límite orina-mucosa, precisamente como el agua lo hace sobre una lámina de cristal perfectamente limpio. Por lo tanto, la orina *moja* a la mucosa y solamente si ésta se altera; por lo tanto, si intervienen nuevas superficies, aparece una tensión superficial mayor en la superficie límite, y la mucosa se moja menos. De todas maneras, los efectos son descritos igual por SCHADE que por LICHTWITZ : concentración de los coloides en el punto lesionado, sobre la superficie extraña, incrustación de coloides y, por relación bien comprensible, de cristaloides, de lo cual resulta una tendencia a la formación del cálculo.

SCHADE da también gran importancia a la modificación coloidal intermedia del ácido úrico, estabilizada por los coloides urinarios ; a

(1) *Ergebn. d. inn. Med. u. Kinderheilk.*, vol. XVII.

la fase de « división en gotas » que ha descrito también en la colesterina (véase a propósito de los cálculos biliares).

Según SCHADE a esto se debe que en las vías urinarias se encuentren unas veces cálculos formados solamente por coloides (de proteínas : rarísimos) de estratificación concéntrica, característica de las precipitaciones sucesivas y discontinuas de muchos coloides ; otras, cálculos de cristaloides puros (de ácido úrico o uratos), originados por aposición de gotitas que se forman transitoriamente cuando cristaliza un cristaloide, en el llamado estado coloidal intermedio y precristalino, que en determinadas circunstancias favorables (reacción : pH = 7 — 5,5 ; indicios de coloides en el medio) se estabiliza y produce concreciones más o menos *estriadas radialmente* y, finalmente, en otras ocasiones, los cálculos mixtos más comunes, con una trama coloidal más o menos acentuada, frecuentemente con estriación concéntrica, como marca de la aposición sucesiva de gel coloidal, a consecuencia de procesos flogísticos que acompañan (causa o efecto) a la calculosis y que provocan la formación de masas de exudado, y a veces también con estriación cristalina radiada.

Los trabajos de SCHADE y BODEN (1) describen los detalles acerca de estas concepciones y distinciones.

En resumen : aún no están bien aclaradas las relaciones entre la simple sedimentación y la formación de cálculos, así como tampoco está determinada la importancia de los núcleos orgánicos (fibrina, bacterias, células, moco) en la génesis del cálculo. Pero parece que diversos y complejos factores químico-físicos y quizá especialmente coloidales, tienen un notable valor, seguramente más que las simples relaciones cuantitativas de las substancias urinarias que constituyen el cálculo. La terapéutica, por ahora, se funda en pocos datos precisos : así, es obvio que el régimen alcalinizante tendrá importancia para reducir las precipitaciones uráticas, aun más que el régimen estrictamente apurínico. En la práctica, pues, una dieta vegetariana cumple ambas exigencias. Si los coloides que mantienen frecuentemente la consistencia del cálculo son reversiblemente solubles, no es absurdo pensar en la posibilidad de una solución parcial de la concreción, pero será muy difícil conseguir esto con medicamentos o con el empleo de aguas minerales. Sin embargo, estas últimas pueden obrar útilmente, impidiendo que continúe la precipitación, ya que pueden diluir notablemente la orina.

(1) *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. LXXXIII.

TERCERA PARTE

Algunos métodos de análisis cuantitativo de uso más corriente, con especial mención de los micrométodos recientes

OBSERVACIONES GENERALES

Se reúnen en este apéndice técnico y práctico algunos métodos de determinación *cuantitativa*, referentes a las substancias más importantes para el estudio del metabolismo, practicados corrientemente con fines clínico-diagnósticos en los líquidos orgánicos. Se presupone el conocimiento de las nociones fundamentales y de las manipulaciones más sencillas de la Química general, así como, las nociones teóricas expuestas en este libro.

Actualmente, el interés preferente del médico se va extendiendo del estudio casi exclusivo de la orina y de otras secreciones al de la sangre. Pero como la sangre, tanto en el hombre como en los animales de experimentación, es sólo posible obtenerla en pequeña cantidad, ha sido necesario adoptar métodos que sólo requieran pequeñas cantidades de este líquido orgánico fundamental, que rige, por decirlo así, la composición de casi todas las excreciones y secreciones; de este modo se han difundido los *micrométodos* o *métodos minimétricos*, debidos a BANG y sobre todo a un grupo de autores norteamericanos, con FOLIN a la cabeza. Estos métodos son rápidos, sencillos e ingeniosos; muchos de ellos no se fundan en principios nuevos sino en los antiguos, simplificados, combinados con el empleo de utensilios de vidrio muy cómodos y adaptados al uso de pequeñas cantidades de material.

Muchos de ellos son *métodos colorimétricos:* procuran obtener reacciones coloreadas y comparan el color desarrollado en el material que se examina con una solución tipo *(standard)* de la substancia buscada. El *colorímetro de* DUBOSCQ, con dos recipientes y dos prismas que se sumergen más o menos en los recipientes o vasitos para observar los líquidos en capas de distinta altura, encuentra amplia aplicación. Con una escala provista de un nonius se leen las diferencias de espesor que existen entre las dos capas coloreadas cuya intensidad de color es igual. Uno de los líquidos, el que sirve de tipo, contiene una cantidad conocida del cuerpo que se quiere dosificar; por la diferencia de espesor necesaria para obtener con el otro una intensidad de color igual a la del primero sobre un fondo igualmente iluminado, es posible averiguar, por medio de un sencillo cálculo, la cantidad del cuerpo en cuestión que existe en la solución que se examina.

Empiezan también a difundirse los *métodos nefelométricos*, fundados en el empleo de reacciones que dan precipitados blancos o enturbiamientos de las soluciones y en la medida del grado de enturbiamiento en comparación con una solución tipo que contenga una determinada cantidad de la substancia que se quiere dosificar. Aunque (véase más adelante a propósito de la dosificación de los cuerpos acetónicos) el colorímetro de DUBOSCQ puede usarse también como nefelómetro, sin embargo se han construído actualmente aparatos especiales, como el nefelómetro puesto a la venta por la casa Schmidt y Haensch, fundado en la medida comparativa de dos capas de un líquido, vistas, no a la luz refractada como en el colorímetro, sino a la luz incidente. La nefelometría ha sido aplicada ya a varias determinaciones, como recientemente por KLEINMANN y ASADA a la determinación cuantitativa de la albúmina y para seguir la digestión péptica (1). Conviene habituar la vista, por medio del ejercicio, a las determinaciones colorimétricas y a las nefelométricas. No hay que contentarse nunca con una sola lectura, sino hacer siempre varias y, cuando se emplea el DUBOSCQ, tener presente esta norma de conducta: fijado el tipo en un punto dado, procúrese

(1) *Klin. Woch.*, 1924, pág. 572.

igualar la intensidad de coloración entre el tipo y la solución que se examina partiendo de capas de esta última unas veces más y otras menos espesas que las del tipo, es decir, llegar al punto buscado en el sentido de más a menos y también en el de menos a más intensidad de coloración.

El *polarímetro* y el *espectroscopio* son también aparatos frecuentemente usados por el bioquímico: para el primero remitimos a las nociones teóricas brevemente expuestas que, con las instrucciones anexas a los aparatos de las buenas casas constructoras serán suficientes para encaminar el trabajo. Recordemos solamente que un polarímetro consta de una celda de bicromato para filtrar la luz (luz monocromática del sodio, obtenida quemando NaCl en un mechero de gas; pero actualmente existen polarímetros que permiten trabajar con cualquier foco de luz), de un prisma polarizador, un tubo para contener la solución que se examina (para la dosificación de los azúcares generalmente de 20 ó 10 cm. de largo, pero se emplean tubos más cortos para los trabajos serológicos: reacción de ABDERHALDEN, etc.) y un prisma analizador, unido al disco graduado que mide la rotación. En los modelos más perfeccionados existen dispositivos interiores que aumentan la exactitud en la medida de la rotación que sufre el rayo de luz polarizada, como los llamados dispositivos *de penumbra;* y en todos, en la periferia del disco giratorio graduado hay un nonius para la medida exacta de la rotación. Siendo $[\alpha]_D$ la rotación específica de una substancia, es decir, la rotación propia de una solución al 100 %, examinada en un espesor de un decímetro (tubo de 10 cm.), se tiene la siguiente relación:

$$[\alpha]_D = \frac{\alpha \times 100}{c \times l},$$

en donde α es la rotación que presenta la solución que se examina, c la concentración de ésta y l la longitud del tubo en decímetros o fracciones. Con esta fórmula y conociendo el $[\alpha]_D$ de un determinado cuerpo, o sea la rotación específica (a 20°, por lo cual las determinaciones deben hacerse rigurosamente a esta temperatura), se puede calcular la concentración de la solución dada en función de las indicaciones del polarímetro:

$$c = \frac{\alpha \times 100}{[\alpha]_D^0 \times l}.$$

En cuanto al espectroscopio, el médico generalmente recurre a aparatos sencillos, llamados de *visión directa:* se trata de una serie de prismas de *crown* y *flint* alternados, dispuestos de manera que el rayo de luz blanca es descompuesto, pero en conjunto no es desviado; un dispositivo sencillo permite proyectar sobre el espectro la escala de las longitudes de onda. Se mira directamente al foco luminoso (KORISTKA tiene un modelo para aplicar al estativo de un microscopio) y, enfocando bien el aparato, se ve el espectro finamente estriado (líneas de FRAUNHOFER), si se trata de la luz solar, y junto a él la escala dicha. La línea *D*, en el *anaranjado*, viene a corresponder a la longitud de onda $\lambda = 589$. La substancia que se examina, en solución y colocada en un recipiente apropiado, preferentemente de paredes planas, se dispone entre el foco luminoso y la hendidura que da entrada a la luz en el espectroscopio. La amplitud de las bandas de absorción debidas a la substancia que se examina varía con la concentración de ésta; frecuentemente se representan gráficamente los espectros con curvas, obtenidas proyectando sobre las abcisas la longitud de onda y sobre las ordenadas la concentración que produce la absorción de los rayos de aquella longitud de onda.

En aparatos especiales de prismas de cuarzo los químicos estudian los espectros de absorción en la zona ultravioleta, no visible, del espectro. El método empieza a ser aplicado en Biología (C. FOÁ) para estudiar los espectros de absorción (en la región ultravioleta) de las hormonas, derivados proteicos, etc., sacando de ello conclusiones interesantes.

Indicadores más frecuentemente usados. — Se usa muchas veces el rojo de alizarina, en solución acuosa al 1 % (1 gr. de alizarin-sulfonato sódico se disuelve en agua hasta obtener un volumen total de 100 cc.). El rojo Congo se emplea al 1 °/₀₀. El anaranjado de metilo se prepara así: 1 gr. de colorante puro se disuelve en 500 cc. de alcohol absoluto y el total se completa con agua hasta 1 litro. El violeta de metilo se usa en solución acuosa al 1 °/₀₀. La fenolftaleína, en solución alcohólica al 1 %. De todos es conocido el empleo del papel de tornasol; esta substancia puede usarse también en solución, para lo cual se pulverizan 10 gr. de tornasol y se agitan con 50 cc. de agua hirviendo: se obtiene una solución azul que se decanta y se completa con agua hasta 1 litro; así resulta una solución al 1 %.

Todos los *indicadores* no son más que electrólitos (la mayoría, ácidos débiles; algunos, bases débiles) cuya molécula indisociada tiene un color claramente distinto del de sus iones correspondientes. Cuanto más acentuada es esta diferencia cromática y cuanto más débil es la disociación del indicador, es tanto más sensible, o sea que posee mayor tendencia a modificar su disociación y por lo tanto a virar de color a consecuencia de pequeñas modificaciones en la concentración de los H- o OH-iones del medio.

Ejemplo: el *anaranjado de metilo, heliantina* o *metilorange*, es un sulfoácido que, en estado molecular tiene color rojo, pero en solución acuosa diluída se disocia en H-iones (incoloros) y un ión complejo de color amarillo: la solución diluída es amarillenta. Si se añade ahora un poco de ácido fuerte, de disociación electrolítica elevada, los H- iones de éste harán retroceder la disociación del sulfoácido, como sucede siempre que a un electrólito se añade otro electrólito con un ión común, y entonces reaparecerá el color rojo, propio de la molécula. El anaranjado de metilo es un buen indicador para los ácidos fuertes (HCl, HNO_3 H_2SO_4), así como para los ácidos fosfórico y sulfuroso; no es sensible al CO_2 ni a los ácidos orgánicos porque éstos se disocian menos que él. Las bases fuertes y medio fuertes también se valoran bien con él: en efecto, el anaranjado de metilo es sensibilísimo a las bases, pero es poco usado cuando una valoración determinada debe terminarse con una base porque la vista aprecia el paso del rojo al amarillo mucho peor que en sentido contrario.

La *fenolftaleína* es un ácido debilísimo que se disocía en H- iones, y en un anión complejo, rojo; pero en agua pura, la disociación es tan reducida que el color rojo de los escasos aniones no aparece. Solamente al añadir un álcali, aun en pequeñísima cantidad, los OH- iones de éste retienen los H-iones de la fenolftaleína para formar moléculas acuosas neutras; entonces la disociación de la fenolftaleína aumenta, eleva el número de los aniones coloreados y aparece el color rojo.

La fenolftaleína es mucho más adecuada para los ácidos débiles que el anaranjado de metilo: es el reactivo más sensible para los ácidos; se presta también para las bases fuertes, pero no para el amoníaco. El hecho de que el agua común, que contiene siempre CO_2, adicionada de este indicador puede admitir cierta cantidad de hidrato de bario antes de presentar el viraje rojo permanente, demuestra que la fenolftaleína es sensible al CO_2, pues el agua se comporta como si tuviese un ácido que neutralizase las primeras cantidades de álcali añadidas. El anaranjado de metilo y la fenolftaleína son los dos indicadores fundamentales, de dos tipos extremos, capaces de servir para casi todas las necesidades de la alcalimetría y acidimetría.

DESCRIPCIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS

1. Toma de la sangre para los microanálisis

Con una jeringa esterilizada se toman 7-10 cc. de sangre de una vena del pliegue del codo; es conveniente que se haya pasado previamente por la jeringa una solución neutra saturada (20 %) de oxalato sódico, sin que queden más que 2 ó 3 gotas. La sangre de la jeringa es echada rápidamente a un recipiente ya preparado con anterioridad: una probeta o un matraz de 200 cc., con un buen tapón de corcho, en el cual se han colocado 20 mgr. de oxalato sódico o (mejor, según FOLIN, para la dosificación del ácido úrico) de litio, para impedir la coagulación de la sangre. Esta dosis de oxalato basta para unos 10 cc. de sangre. Se mezcla bien la sangre con el oxalato, sin sacudir, solamente invirtiendo una o dos veces el recipiente tapado. La sangre, si no se trata de dosificar el azúcar o la creatina puede conservarse en la nevera durante algunos días. Para impedir la coagulación puede emplearse también « gasa al oxalato » 50 mgr. para 15-18 cc. de sangre. La gasa se prepara de la manera siguiente: 75-80 gr. de gasa de algodón (algodón *de ojo de pájaro*, según el procedimiento original de FOLIN) (1), completamente exenta de almidón, se cortan en tiras de 10 cm. de ancho y de 40-50 cm. de largo. Se disuelven 10 gr. de carbonato de litio y 17 gr. de ácido oxálico en 240 cc. de agua caliente (75°); cuando se han disuelto por completo se sumergen las tiras de gasa y se mantienen durante algunos minutos (en caliente), luego se sacan, se cuelgan con alfileres sin exprimirlas y se dejan secar. La gasa así preparada contiene cosa de un 20 % de oxalato de litio.

2. Desalbuminación de la sangre com alcohol metílico

Método bastante sencillo: 2 ó 5 cc. de sangre (recogida con una jeringuilla vaselinada o con pipetas de cristal unidas a agujas de sangría y también vaselinadas, con un poco de oxalato potásico pulverizado en el interior) se colocan rápidamente en matracitos aforados, de 25 ó 50 cc., respectivamente, llenos hasta la mitad con alcohol metílico; después se acaba de llenar con alcohol metílico hasta la señal de enrase (a 25 ó a 50) y se agita. Al cabo de tres horas se filtra por filtro seco en un recipiente bien seco y se añaden al filtrado 2-3 gotas de solución saturada de cloruro de zinc: los residuos de proteínas y pigmentos precipitan. Al cabo de 15 minutos se vuelve a filtrar por un filtro bien seco. Cada 10 cc. de este filtrado corresponden, si se tomaron 2 cc. de sangre y diluyeron hasta 25, a 0,8 cc. de sangre y, si se tomaron 5 cc. de sangre y se completó a 50, a 1 cc. de sangre.

Actualmente se aconseja el siguiente método de FOLIN y WU, y a él nos referiremos siempre si no se advierte otra cosa. Véase también: *Desalbuminación con ácido tricloracético* en el n.° 7 par. *d*.

3. Método para desalbuminar la sangre según Folin y Wu (2)

Se necesita:

a) Una solución al 10 % de tungstato (wolframato) sódico:

$$Na_2WO_4 + 2H_2O:$$

b) Ácido sulfúrico $^2/_3$ normal (33,70 gr. de H_2SO_4, o sean 18,47 cc. de ácido de peso específico 1,8400, en 1 litro).

c) Ácido sulfúrico 2-normal en un cuentagotas.

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. LIV, pág. 165.
(2) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XXXVIII, pág. 81, 1919.

Se procede de la manera siguiente: se colocan 5 cc. (exactamente medidos con una pipeta de OSTWALD) de sangre oxalatada (véase más arriba) en un matraz de 100 cc. (1); soplar para hacer salir toda la sangre. Después se miden 35 cc. de agua destilada en una pequeña probeta graduada (por lo tanto siete veces el volumen de la sangre), se aspira esta agua con la pipeta vertiéndola luego en el matraz, se repite la operación dos o tres veces para lavar bien la pipeta y se echa en el matraz el resto del agua. Agitar bien: la sangre se hemoliza (también el azúcar y los aminoácidos contenidos en los hematíes pasan a la solución). Con otra pipeta de 5 cc. se toman 5 cc. de la solución *a)* de tungstato y se añaden a la sangre diluída y hemolizada; se agita, y con otra pipeta se añaden otros 5 cc. de la solución *b)*, agitando *ligeramente* el matraz mientras se agrega este líquido. Se tapa bien (tapón de goma o de corcho, bien limpio!) y entonces se agita dos veces enérgicamente. Si la coagulación ha sido bien hecha no se forma espuma; el color oscurece; se percibe un ruido metálico como si se agitase mercurio. Si no hay ennegrecimiento es señal de que se ha echado poco ácido y entonces, sacudiendo siempre fuertemente, se añade gota a gota solución *c*) dejando que transcurran algunos minutos entre gota y gota. No debe nunca echarse más de 10 gotas: deben bastar para liberar el ácido túngstico de la combinación sódica, pero no deben dar una reacción ácida clara (la reacción debe ser neutra o débilmente ácida con el papel de rojo Congo). Si dentro de estos límites y con este procedimiento no se consigue obtener una coagulación perfecta de las proteínas, se tira todo y se comienza de nuevo con nueva sangre.

Obtenida ya una buena coagulación se completa el volumen total hasta 50 cc., o sea al *décuplo* del volumen de sangre de que se ha partido (también se puede partir de más, pero entonces hay que hacer todas las adiciones en proporción). Se prepara un embudo con filtro plegado de dimensiones tales que quepan de una vez los 50 cc. de material. El filtro no se humedece con agua, sino con algunas gotas del líquido claro que sobrenada en el matraz en que se ha hecho la precipitación. Una vez se ha mojado bien el filtro, se vierte en él todo el contenido del matraz; debe obtenerse un filtrado claro como agua (de no ser así, se hace pasar varias veces por el filtro). Consérvese el filtrado en un matracito bien seco y limpio; el filtrado debe ser aproximadamente neutro (prueba con el papel al rojo Congo). Un par de gotas de toluol permiten una conservación bastante larga. Se puede conservar cuatro o cinco días hasta para la determinación de la glucosa por el método de FOLIN y WU, añadiendo *una* gota de formol al 40 %. A este método nos referiremos, si no se advierte otra cosa, cuando hablemos de filtrado de sangre a propósito de los micrométodos en este líquido orgánico. Véase también FOLIN y WU (2) a propósito de la determinación de la glucosa de la sangre.

4. Determinación del N total (en las heces, en los tejidos, en la orina, etc.) con el método de Kjeldahl, modificado por Gunning-Arnold.

El método de KJELDAHL para la determinación del N se funda en el hecho de que la determinación de este elemento en forma de NH_3 es fácil y segura; es, pues, necesario transformar todo el N de una substancia en amoníaco, oxidando enérgicamente en caliente con ácido sulfúrico concentrado. Luego el NH_3 se libera fácilmente con álcalis fuertes, se destila, se recoge en una solución ácida de valor conocido y se dosifica la acidez residual de esta solución, lo cual equivale a determinar la cantidad de NH_3 desarrollado. Todas las aplicaciones y modificaciones del KJELDAHL comprenden dos operaciones: la oxidación de la substancia con H_2SO_4 facilitada por la adición de catalizadores metálicos especiales, como Hg (según el método clásico de WILFARTH) (3), Cu, etc., y el desarrollo, recogida y valoración del amoníaco (véase más abajo). Según varios micrométodos americanos, la determinación cuantitativa del amoníaco puede practicarse colorimétricamente (por la reacción cromática que da el NH_3 con el reactivo de NESSLER). He aquí el método de KJELDAHL, modificado por GUNNING-ARNOLD, variante muy aconsejable para la *orina:*

(1) Cuando se mide un líquido con una pipeta, es necesario apoyar la punta de ésta en las paredes del recipiente en que se recoge y dejar descender lentamente el líquido a lo largo de la pared del vaso.
(2) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XLI, pág. 367.
(3) Véase: TREADWELL, *Kur. Lehrb. d. analytisch. Chem.*, vol. II, Leipzig, 1911.

En un matraz de cristal de Jena de cuello largo o matraz de KJELDAHL se miden exactamente 5 cc. de orina: procurar que toda la orina vaya al fondo del matraz, lavar el cuello con un chorro delgado de agua, pero procurando gastar la menor cantidad posible de ésta. Se añaden 5 gr. de sulfato potásico ó 10 gr. de sulfato de sodio, 20 cc. de H_2SO_4 concentrado y de peso específico 1,84 y 10 cc. de una solución de sulfato de cobre en ácido sulfúrico (1 gr. de H_2SO_4 y 1 gr. de sulfato de cobre en 10 cc.). Se calienta a pequeña llama, lentamente, luego más fuertemente hasta eliminación de toda el agua (que no dé vapores); para impedir que el líquido *salte*, es conveniente poner algunos trozos de vidrio o un poco de talco en el matraz. Eliminada el agua, se añaden otros 15 gr. de sulfato de potasio ó 30 gr. de sulfato sódico ($Na_2SO_4 + 10\,H_2O$) para elevar el punto de ebullición, y se continúa calentando durante 2 $^1/_2$-3 horas. El líquido debe quedar sin indicios de color amarillo, sino solamente verdoso por la presencia de $CuSO_4$. Se separa entonces de la llama y se deja enfriar un poco, hasta que se ve iniciar la cristalización; en este momento se añaden 250 cc. de agua destilada, poco a poco y agitando siempre, y se tiene así terminada la primera parte de la operación. Se pasa ahora a destilar: el aparato de destilación debe estar bien limpio, haciendo en él, si es preciso, una primera destilación en blanco, de agua destilada con un poco de zinc metálico en gránulos. En un ERLENMEYER de 250-300 cc. se vierten 25 cc. de solución de H_2SO_4 $\frac{n}{2}$ medidos con gran exactitud; el tubo de desprendimiento del destilador debe estar *sumergido* en esta solución. El matraz en que se ha practicado la oxidación debe estar bien seco por fuera, así como el primer trozo de 2-3 cm. del cuello para poderlo tapar a su debido tiempo y, cuando todo está a punto, se vierten (cuidando de no mojar el trozo inicial del cuello, donde vendrá el tapón de goma) 100 cc. de una solución especial de sosa cáustica y sulfuro sódico o, más sencillamente, 80-100 cc. de sosa cáustica al 40 % (algunos dicen unos 50 cc. de sosa cáustica para cada 10 cc. de ácido sulfúrico empleado en la oxidación) y 20-30 cc. de una solución al 4 % de sulfuro potásico. Entonces se enchufa rápidamente el matraz en el sistema destilador, por medio de un tapón de goma atravesado por el principio del tubo de destilación y que ajuste perfectamente; se comienza a calentar ligeramente, luego con más energía y cuando han pasado unos 150 cc. de líquido al ERLENMEYER, se puede levantar el tubo de desprendimiento de manera que su extremo libre quede por encima del nivel del líquido (solución ácida $\frac{n}{2}$), dejar destilar aún unos 5 minutos más y comprobar con papel de tornasol que no se desprende más NH_3. El extremo del tubo de desprendimiento se lava con un chorro fino de agua, que se recoge en el ERLENMEYER con el destilado. La última cosa que hay que hacer es apagar el gas de debajo del matraz. Finalmente se valora la acidez residual en el ERLENMEYER con NaOH $\frac{n}{2}$, empleando como indicador el anaranjado de metilo; la diferencia entre los 25 cc. de ácido $\frac{n}{2}$ que habíamos tomado y la acidez residual nos da la cantidad de ácido retenido por el NH_3 desarrollado. Es conveniente haber puesto una gota de indicador (1 gr. de anaranjado de metilo disuelto en 500 cc. de alcohol y completado después con agua hasta 1 litro) en el ERLENMEYER antes de la destilación, para estar seguros de que el NH_3 no sobrepase la cantidad de ácido disponible. Frecuentemente existen indicios de NH_3 en los reactivos, por lo cual se aconseja hacer una corrección de $^1/_2$ cc. de la solución $\frac{n}{2}$ o, mejor, practicar un ensayo en blanco sin orina, con el cual se determina el NH_3 del ácido sulfúrico, de la sosa, etc.

El cálculo es fácil; si el NH_3 desprendido ha neutralizado m cc. de ácido $\frac{n}{2}$, quiere decir que de la orina empleada se han obtenido, en forma de NH_3, $\frac{m \times 0{,}01401}{2}$ gr. de N (puesto que el peso atómico de N es = 14,01); y es fácil deducir de aquí la cantidad de N por 100 o bien por 1000 partes de orina.

Para las *heces* es necesario secarlas del todo hasta peso constante a 120°, previa adición de un poco de H_2SO_4 *n*, pulverizarlas en un mortero, mezclando bien, pesar el total, y tomar una parte alícuota (por ejemplo un gramo); sobre ésta se hace la determinación, procurando que el ácido sulfúrico concentrado la cubra de todo en el matraz, que no quede polvo en el cuello, etc.

Para los tejidos se practica generalmente la determinación con material desecado a 100° (0,4-0,5 gr.). Si se trabaja con material fresco, se toma mayor cantidad: hasta 2-3 gramos.

5. Microdeterminación del nitrógeno total de la orina según Folin y Farmer (1)

Se necesita una solución de sulfato amónico que contenga una cantidad conocida de N por cc., y el *reactivo de* NESSLER para el amoníaco.

Solución tipo de sulfato amónico. — Se prepara de esta manera: 13,2 de sulfato amónico del comercio se tratan con 8 gr. de sosa cáustica, se obtiene sulfato sódico y amoníaco libre, que se aspira (véase más adelante el método de aspiración) dentro de un recipiente con 9,8 gr. de ácido sulfúrico diluído en 2-3 volúmenes de agua. Se obtiene así sulfato amónico puro, que se precipita con alcohol, se filtra, se disuelve en agua y se reprecipita con alcohol. Se seca en un desecador de ácido sulfúrico; 1 cc. de una solución que contenga 4,7206 gr. de este sulfato amónico en 1000 cc. de agua corresponde a 1 mgr. de N.

Reactivo de NESSLER. — 62,5 gr. de yoduro potásico se disuelven en unos 250 cc. de agua destilada. Se reservan aparte algunos centímetros cúbicos de esta solución y al resto se añade una solución saturada en frío de bicloruro de mercurio ($HgCl_2$ = sublimado corrosivo) hasta que se obtenga un ligero precipitado estable (se necesitan generalmente unos 500 cc.). Entonces se añade el resto de la solución de KI y luego solución de $HgCl_2$, poco a poco, hasta que aparezca un ligero precipitado permanente. Se disuelven 150 gr. de potasa cáustica sólida en 150 cc. de agua y se deja enfriar; esta solución concentrada de álcali se añade poco a poco a la anterior de yoduro y sal de mercurio, y se completa luego hasta un litro. Se deja sedimentar, se decanta, y el líquido claro se embotella y se guarda en la oscuridad (mejora con el tiempo).

Descritas ya estas dos soluciones, pasemos al MICRO-KJELDAHL. Ante todo se determina el peso específico de la orina: si es muy alto (por encima de 1,018) se coloca la orina (5 cc. bien medidos) en un matracito tarado de 50 cc., si es bajo se coloca la *misma* cantidad de orina en un matracito de 25 cc., pues en este último caso es necesario que la orina esté menos diluída. Se completa con agua hasta la señal de enrase y se mezcla bien (invirtiendo varias veces el matraz tapado). Luego se mide 1 cc. de esta orina (diluída al 1 : 5 ó al 1 : 10) en un tubo de cristal de Jena, en el que se pone 1 cc. de ácido sulfúrico concentrado, 1 gr. de sulfato potásico, una gota de solución al 5 % de $CuSO_4$ y un fragmento limpio de cuarzo, para que el líquido no se proyecte al hervir. Se hierve durante 6 minutos sobre una microlámpara, es decir, unos 2 minutos a partir del momento en que se decolora. Se deja enfriar, pero solamente hasta que la mezcla empieza a hacerse viscosa. Entonces se añade agua gota a gota, hasta llegar a agregar en conjunto (al final se echa más aprisa) 6 cc. Se añade entonces un exceso de solución saturada de Na OH (unos 3 cc.). Luego se pasa a la aspiración del NH_3 por una corriente de aire, recogiendo el NH_3 en un matraz aforado, de 100 cc., que contiene 2 cc. de H_2SO_4 $\frac{n}{10}$ y 20 cc. de agua. La aspiración se hace con uno de los dispositivos usados por FOLIN (véase determinación del NH_3, de la urea, etc.), es decir, con un sistema de tubos con tapón de dos agujeros para los dos tubos que lo atraviesan, uno de ellos que llega hasta el líquido, y el otro no (véase figura en la pág. 792, a propósito de la determinación de la urea por medio de la ureasa en la orina y en la sangre, según MARSHALL). El aire arrastra NH_3 de los tubos de oxidación hasta el frasco receptor. La corriente debe ser débil al principio, y después, fuerte.

En 10 minutos, por lo general, todo el NH_3 es aspirado y fijado; entonces se dosifica colorimétricamente con el reactivo de NESSLER. El contenido del matraz receptor se diluye hasta cerca de 60 cc. Se toman 5 cc. del reactivo, se diluyen con agua hasta 25 cc. y de esta dilución se colocan 5 cc. en el matraz, donde tiene lugar lentamente la reacción coloreada propia del NH_3. La coloración máxima se obtiene al cabo de una media hora. Se diluye hasta la señal de enrase (100 cc.) y se procede a la determinación colorimétrica con el DUBOSCQ, comparando este líquido con la solución de sulfato amónico cuya riqueza en N se conoce, preparada y tratada de una manera igual y al mismo tiempo (cuando se llega al final de la aspiración, se toma esta solución tipo y en otro frasquito aforado de 100 cc., se coloca la cantidad correspondiente a 1 mgr. de N.; se diluye hasta 60 cc., se añade la cantidad de reactivo

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XI, pág. 493.

de NESSLER antes indicada, etc., todo ello paralelamente al tratamiento de la muestra que se examina).

El cálculo es fácil: si el matraz que contiene 1 mgr. de N (solución tipo) está en el colorímetro a 20, y la otra solución (de orina) debe ponerse a 15 para dar igual intensidad de color, quiere decir que en esta última habrá $\frac{20}{15}$ mgr. de N.; como sabemos la cantidad de orina de que hemos partido, terminaremos el cálculo refiriendo el N a 100 ó 1000 partes de orina.

6. Microdeterminación del N total de la orina con nesslerización directa, según Folin y Denis (1)

En este método se practica la determinación del NH_3 con el reactivo de NESSLER *en la misma mezcla* en que ha tenido lugar la digestión u oxidación total de la orina que se examina; se elimina, por lo tanto, la destilación.

La digestión (oxidación) se realiza con una mezcla de 3 partes de ácido fosfórico y 1 de ácido sulfúrico, que destruye bien las substancias orgánicas sin estorbar mucho para la nesslerización sucesiva como lo harían los sulfatos contenidos en gran cantidad en el resultado de practicar el KJELDAHL ordinario con ácido sulfúrico solamente. Tiene el inconveniente, sin embargo, de que el ácido fosfórico, no volátil, ataca al vidrio. Según los autores es útil una mezcla oxidante compuesta así: ácido sulfúrico concentrado, 100 cc., ácido fosfórico al 85 % (ácido fosfórico siruposo), 300 cc.; sulfato de cobre al 10 % (añadido poco a poco), 15 cc.

En lugar del reactivo de NESSLER acostumbrado (véase método precedente) se aconseja una solución de yoduro mercúrico-potásico al 5-6 % con 2 % de hidrato sódico. Se procede de esta manera: primero se prepara la solución de yoduro doble (HgI_2.2KI) disolviendo unos 75 gr. de yoduro potásico en 50 cc. de agua caliente, añadiendo 100 gr. de yoduro mercúrico y agitando; cuando la solución es perfecta se diluye hasta 400-500 cc., se filtra y finalmente se completa hasta un litro. Obtenida la solución de yoduros, se prepara el NESSLER especial para este caso añadiendo 2 % de NaOH, de esta manera: se toman 300 cc. de la solución de yoduros, se agregan 200 cc. de solución al 10 % de NaOH purísima y 500 cc. agua, y se mezcla; ésta es la solución apropiada para practicar la determinación, directa del NH_3.

Se necesita, además, una solución tipo de sulfato de amonio, que contenga 1 mgr. de N en cada 20 cc. (que puede obtenerse diluyendo convenientemente la de 1 mgr. por cc. antes descrita). También se requiere una solución, al 10 % aproximadamente, de hidrato sódico.

Se diluye la orina de manera que 1 cc. contenga unos 0,7-1,5 mgr. de N: por ejemplo, una orina con un peso específico de 1,030 o más se diluirá al 1 : 20; una orina con un peso específico de 1,018-1,030 se diluirá al 1 : 10.

Con una pipeta de OSTWALD se mide 1 cc. *exacto* de orina diluída, que se coloca en un tubo de cristal de Jena. Luego, con una pipeta ordinaria, se añade 1 cc. de la mezcla sulfofosfórica, y después un pedacito de cuarzo. Calentar al micromechero hasta que toda el agua se haya eliminado (entonces aparecen unos vapores densos de ácido sulfúrico) lo cual debe suceder en 2-5 minutos. Tapar la boca del tubo con un cristal de reloj y continuar calentando de manera que se escapen pocos vapores ácidos. En $^1/_2$-3 minutos después de tapar el tubo, el contenido debe ser transparente y verdoso o azulado (por el Cu); prosíguese calentando unos 30-60 segundos más: en conjunto la operación no debe durar menos de 2 minutos desde el momento que se tapó el tubo con el vidrio de reloj. Enfriar durante 2 minutos. Añadir agua y verter la mezcla en un matraz aforado de 200-250 cc. usando unos 150 cc. de agua para lavar el matraz. A esta mezcla digerida añadir cierta cantidad de solución al 10 % de hidrato sódico, para neutralizar y convertir el líquido en apropiado para la reacción con el NESSLER. La cantidad de solución alcalina se determina así: se valora aparte la acidez de 1 cc. de la mezcla de ácido sulfofosfórico empleada en la oxidación, usando hidrato sódico al 10 % y con fenolftaleína como indicador; $\frac{11}{8}$ del valor obtenido + 2 cc. es la cantidad de sosa al 10 % que se tomará para neutralizar.

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XXVI, pág. 473, 1916.

En otro matraz aforado igual al anterior se coloca 1 cc. de la mezcla de ácido sulfofosfórico empleada y 20 cc. de la solución tipo de sulfato amónico antes descrita; se añaden, además, 125 cc. de agua y la misma cantidad de hidrato sódico al 10 % que se colocó en el matraz con la mezcla digerida. Con una probeta graduada añádanse a los dos matraces 15 cc. de la solución alcalina de yoduros (NESSLER modificado). Mézclese *rápidamente* y complétese hasta la señal de enrase. Los dos líquidos coloreados (el obtenido con la orina y el tipo) se filtran por un poco de algodón; no debe obtenerse ningún precipitado rojo (esto indicaría que la nesslerización había salido mal). El líquido debe resultar perfectamente transparente, sin señales de opalescencia. Procédase a la lectura colorimétrica.

El método de la nesslerización *directa* puede aplicarse también a la determinación del NH_3 en la orina y del N residual de la sangre (1).

7. Dosificación de las proteínas en los tejidos, orina, sangre, etc.

En los *tejidos y órganos* las proteínas son dosificadas generalmente de una manera global, determinando el N total por medio del KJELDAHL, que es *casi* todo N proteico: el error debido a las substancias extractivas nitrogenadas no es muy grande. El valor del N total se multiplica por 6,25 para obtener la cantidad de proteínas (si se trata de tejidos vegetales, cuya riqueza en N no proteico es mayor, se multiplica por 5,68). Para el aislamiento de cada una de las proteinas sirven los caracteres de éstas, ya indicados: de este modo se separan por precipitación fraccionada las distintas porciones (véase a propósito de la sangre) o fracciones proteicas, que no quiere decir que corresponde siempre a especies químicas puras y bien definidas.

Para la *orina* es muy empleada la determinación con el *albuminómetro* de ESBACH; la orina es mezclada según las indicaciones del tubo graduado, con una solución que se prepara de la siguiente manera: 10 gr. de ácido pícrico y 20 gr. de ácido cítrico se disuelven en agua destilada y se diluyen hasta un litro. La orina *debe* ser ácida (si no lo es, se acidula con ácido acético) y no demasiado densa (peso específico no superior a 1,010; si la densidad es mayor, se diluye previamente). Es necesario agitar el tubo invirtiéndolo varias veces, sin hacer demasiada espuma, y dejar sedimentar durante 24 horas antes de hacer la lectura (albúmina total por litro).

Queremos describir el procedimiento de CULLEN y v. SLYKE para dosificar *exactamente*, mejor que con las simples precipitaciones y pesadas de los precipitados, el *nitrógeno* de las distintas fracciones proteicas del *plasma sanguíneo:* Estos autores (1) proceden así:

a) Determinación de la fibrina: 5 cc. de plasma sanguíneo (de sangre a la que se ha añadido el 0,5 % de oxalato potásico) son mezclados con 150 cc. de NaCl 0,8 % y 5 cc. de solución de cloruro de calcio que contenga 2,5 gr. de $CaCl_2$ anhídrido por 100 cc. Dejar coagular completamente (10-15 minutos), filtrar por papel de filtro y lavar 5 veces con solución de NaCl al 0,8 %, procurando que en cada lavado el líquido permanezca en contacto con el precipitado durante 10 minutos, para lo cual se tapa la salida del embudo. El coágulo (fibrina) se tralada con el filtro a un matraz de KJELDAHL; se añaden 20 cc. de H_2SO_4, 12 gr. de sulfato potásico y un cristal de sulfato de cobre, y se practica la determinación del N de la manera acostumbrada: así se obtiene el N de la fibrina.

b) Determinación de la seroalbúmina: a 5 cc. de plasma se añaden 20 cc. de agua y 25 cc. de una solución saturada de sulfato amónico: se deja en reposo hasta la mañana siguiente, y se filtra por papel seco. Del filtrado (que contiene solamente el N de la albúmina y el N no proteico debe eliminarse el sulfato amónico, *de la manera más completa:* para ello se colocan 20 cc. de dicho líquido (= 2 cc. de plasma) en un matraz de KJELDAHL de $^1/_2$ litro, se añaden 300 cc. de alcohol al 50 %, 3 gr. de magnesia (Mg O purísimo MERCK) y 1 cc. de aceite de vaselina. Destilar hasta que el líquido que se condense ya no dé reacción azul (NH_3) con el papel de tornasol. Al resíduo se le añaden 25 cc. de H_2SO_4, 5 gr. de K_2SO_4 y un pequeño cristal de sulfato de cobre. Proceder como en el KJELDAHL ordinario hasta color ligeramente oscuro. Entonces lavar el matraz con algunos centímetros cúbicos de agua, añadir otros 10 cc. de H_2SO_4 y seguir calentando a pequeñas llama durante una tres horas. Se acaba

(1) Véanse los trabajos sucesivos en el mismo vol. del *Journ. of biol. Chem.*
(2) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XLI, pág. 587, 1920.

el KJELDAHL como de costumbre: se obtiene el N de la seroalbúmina sustrayendo del N así determinado el N no proteico (véase más abajo).

c) Determinación del N total del plasma: se hace por el método corriente de KJELDAHL, con 2 cc. de plasma, con 20 cc. de H_2SO_4, 12 gr. de K_2SO_4 y unos 0,2 gr. de $CuSO_4$, dejando al final el líquido sometido a poca llama hasta dos horas después de la decoloración completa.

d) Determinación del N no proteico: se toma un matraz aforado de 50 ó 100 cc., se llena hasta la mitad con solución al 2,5 % de ácido tricloracético y se añaden respectivamente 5 ó 10 cc. de plasma: se completa hasta la señal de enrase con solución tricloracética y se mezcla. El plasma habrá sido, pues, tratado con 9 volúmenes de solución al 2,5 % de ácido tricloracético. Después de una hora se filtra por filtro seco: se mide el volumen del filtrado y se traslada a un matraz de KJELDAHL; se acaba de determinar el N por el procedimiento acostumbrado. Así se obtiene el N no proteico. Este método de desalbuminación se debe a GREENWALD (1) que lo ha modificado después (2) empleando ácido tricloracético al 5 %.

Es necesario practicar determinaciones en blanco para poder hacer las correcciones referentes a los reactivos: el error es igual para todas las determinaciones (0,46 cc. de solución $NCl\frac{n}{14}$ son neutralizados por el NH_3 debido a los reactivos: v. SLYKE recoge el NH_3 del KJELDAHL en ácido clorhídrico $\frac{n}{14}$, para facilitar el cálculo: entonces hay que restar 0,46 de todos los valores encontrados.

8. Determinación del N residual o no proteico de la sangre, según Folin y colaboradores (especialmente: Folin y Wu) (3)

Puede determinarse esta importante fracción del N de la sangre recurriendo a los macrométodos corrientes: así, se puede desalbuminar el plasma con el ácido tricloracético y practicar el KJELDAHL en el residuo, según CULLEN y v. SLYKE, como se ha dicho en el párrafo precedente. Pero puede emplearse un verdadero MICRO-KJELDAHL según el siguiente método de FOLIN y sus discípulos: se emplea el filtrado de la sangre desalbuminada por el método de FOLIN y WU, se somete al KJELDAHL para transformar todo su N en NH_3, y luego se dosifica colorimétricamente éste, con el *reactivo* de NESSLER, según el sistema de FOLIN y sus colaboradores.

Soluciones necesarias:

a) Solución de sulfato amónico. Cosa de 0,5 gr. de esta substancia es desecado a 100° hasta peso constante: luego se toman exactamente 0,2830 gr., se disuelven en un matraz aforado de un litro y se llena con agua hasta la señal: esta es una solución tipo, de la cual 0,5 cc. contienen 0,0003 gr. (o sea 0,3 mgr.) de N.

b) Solución ácida para la oxidación: 100 cc. de H_2SO_4 concentrado y 300 cc. de ácido fosfórico al 85 % (llamado ácido fosfórico siruposo) se mezclan en una probeta, se cierra bien y se deja depositar durante algunos días. Se extraen con una pipeta 100 cc. de líquido claro al que se añaden 10 cc. de solución de sulfato de cobre al 6 % y 100 cc. de agua. Se tiene, pues, la misma mezcla ácida sulfofosfórica empleada por FOLIN y DENIS (véase n.° 6) pero diluída al doble.

c) Reactivo de NESSLER que se prepara de este modo (y se conserva perfectamente): se prepara una solución saturada (cerca del 55 %) de sosa cáustica, se decanta al cabo de unos días, y el líquido claro se diluye hasta que la sosa quede a una concentración del 10 % aproximadamente: comprobar bien por volumetría que la solución se acerque a esta concentración (error no superior al 5 %).

Se disuelven aparte en 100 cc. de agua caliente (agitar) 150 gr. de yoduro potásico purísimo, se añaden 200 gr. de yoduro de mercurio (HgI_2) se completa hasta un litro, se deja en reposo 2 días, se filtra si es necesario y se completa hasta dos litros. Se mezclan 3,500 cc. de la solución de sosa (al 10 %) con 750 cc. de la solución de yoduros y se diluye con 750 cc. de agua completamente exenta de NH_3 (bien hervida), obteniéndose así 5 litros del reactivo. Es necesario comprobar que el reactivo es bueno y que da un color amarillo o amarillo oscuro sin enturbiamiento, con una dosis apropiada de NH_3. Para esto se miden 2 cc. de la solución *b)*, cuyo ácido

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XXI.
(2) *Id.*, vol. XXXIV.
(3) *Id.*, vol. XXXVIII, pág. 87.

debe ser totalmente neutralizado por el reactivo de NESSLER (punto éste bastante delicado) se echan en un tubo o matraz aforado, se añaden 5 cc. de la solución tipo *a)*, 55 cc. de agua, 30 cc. del reactivo que se ensaya y se completa hasta 100; se comprueba si se produce una buena coloración y si el líquido permanece transparente. Si no se cumplen estas condiciones el reactivo contiene demasiado poco álcali o contiene carbonatos, y es inservible para la colorimetría.

He aquí ahora cómo se hace la determinación del N: se usa un *tubo de* MICRO-KJELDAHL: un tubo de Jena con una señal a 35 y otra a 50 cc. esta última a un poco más de la mitad de la altura. En él se colocan 5 cc. del filtrado de sangre desalbuminada (FOLIN-WU, véase n.° 3), 1 cc. de solución *b*, y algún fragmento de cristal (para que la mezcla no *salte!*). Se hierve a pequeña llama hasta evaporación de toda el agua y desprendimiento de vapores sulfurosos blanquecinos; entonces se cubre la boca con un cristal de reloj y se continúa calentando hasta decoloración completa (unos 3 minutos), pero *sin exceder de lo precisamente necesario.* Dejar enfriar durante un par de minutos como máximo; añadir agua hasta la señal 35, dejar enfriar otra vez, añadir entonces reactivo de NESSLER hasta la señal 50, agitar y enfriar bajo el grifo; el líquido resulta de color amarillo: si fuese turbio, hay que centrifugarlo o decantarlo. Entonces se prepara esta solución de comparación: 5 cc. de la solución *a)* se colocan en un matraz aforado de 100 cc.; se añaden 30 cc. de agua, 2 cc. de la solución ácida *b)*, 30 cc. de la solución *c)* (NESSLER), se completa hasta 100 y se agita. Se compara entonces al colorímetro el color obtenido en esta solución con el color de la solución de la sangre sometida al KJELDAHL y adicionada de reactivo de NESSLER.

El colorímetro empleado es generalmente el de DUBOSCQ: es necesario procurar que la luz sea uniforme y, si es posible, comprobar el aparato poniendo en ambos vasitos líquido del que sirve como tipo de comparación y mirando si hay igualdad de iluminación a igual altura de los prismas. Si el colorímetro está bien regulado, se coloca (o se deja si ya se había puesto para el ensayo dicho) la solución de comparación en un vasito, se lava bien el otro recipiente, se pasa un par de veces la solución que se examina (la obtenida con la sangre), luego se pone definitivamente ésta y se hace la comparación. Es conveniente que dos personas distintas hagan la lectura, a fin de comprobar recíprocamente los resultados. Si la solución de comparación está a 20 y la que se examina corresponde a *n*, el contenido en N residual para 100 cc. de la sangre que se examina será $\frac{20}{n} \times 30$.

Es fácil comprender la razón de este cálculo si recordamos que la solución tipo está diluída a 100 cc. y la sangre a 50 cc. y además que 5 cc. de filtrado corresponden a 0,5 cc. de sangre y que 5 cc. de la solución *a)* contienen 0,3 mgr. de N. En la sangre normal se encuentran con este método cantidades de 25-40 mgr. por 100 cc. de sangre total.

9. Método de v. Slyke para la determinación del nitrógeno amínico

El método se funda en el hecho de que los grupos amínicos reaccionan con HNO_2 desprendiendo nitrógeno gaseoso, que puede ser medido fácilmente (véase página 94). Los principios fundamentales han sido expuestos en el *Journ. of biol. Chem.*, vol. IX, pág. 185; entonces v. SLYKE empleó un aparato que después ha modificado (vol. XII, página 275). Más tarde se han propuesto aparatos de dimensiones reducidas, que permiten un verdadero *microanálisis* (vol. XVI, pág. 121, y vol. XXIII, pág. 407). Sin embargo siempre se trata de hacer reaccionar el material que se examina con una solución de nitrito sódico y ácido acético, la cual proporciona, por consiquiente, el ácido nitroso. Una buena idea de v. SLYKE ha sido la de adoptar el *óxido de nitrógeno* (NO), que se libera siempre, por descomposición espontánea del ácido nitroso, en solución, para expulsar el aire del sistema, antes de practicar la reacción fundamental con la substancia que se examina. Expulsado el aire por el NO del sistema de tubos y bolas de vidrio, se hace desarrollar la reacción, que produce N libre, y luego se absorbe el NO por medio de permanganato potásico en solución alcalina; queda por lo tanto solamente el N, que se mide fácilmente y permite calcular (teniendo en cuenta la temperatura y presión del momento) el N amínico con una tabla muy cómoda que v. SLYKE ha establecido.

Por lo tanto el análisis, tanto con los aparatos grandes como con microaparatos, se realiza en tres tiempos: expulsión del aire del aparato por medio del NO, des-

prendimiento de N de la substancia que se examina, y absorción del NO seguida de la medición del N. La ampolla de desaminación y la pipeta de gas o *pipeta de* HEMPEL (ésta de un modelo un poco especial, pero de tipo parecido a las que se emplean en los análisis de gases, llena de una solución alcalina de K Mn O_4) deben ser agitadas rápida y uniformemente, si es posible por medio de un motorcillo eléctrico o de agua. Describiremos aquí el procedimiento tal como se hace con el aparato grande, detallado en el volumen XII (y representado allí en las págs. 276 y 277); los microaparatos no son más que modelos reducidos; de vez en cuando se propone uno nuevo, pero serán todos fáciles de emplear, si se sabe ejecutar el método fundamental con el aparato normal.

Los órganos esenciales de éste son los de la figura esquemática n.° 14 sacada del trabajo de v. SLYKE (vol. XII), mientras que la figura n.° 15 demuestra las conexiones generales, con el motor y con la pipeta de gas o pipeta de HEMPEL, destinada a absorber el NO. La ampolla para la desaminación D tiene una capacidad de 40-45 cc.; posee una llave *d* que comunica con el exterior (todas las vías de expulsión al exterior están, como puede verse en la figura 14, unidas en una expulsión única, para mayor limpieza y comodidad). Está unida con el recipiente cilíndrico A, de una capacidad de 35 cc., mediante una llave *a*, y está también unida por medio de un tubo más ancho con la bureta B, de una cabida de 10 cc.; preferentemente graduada. La ampolla D está unida, además, por medio de un tubo con llave de tres pasos *c)* con una gran bureta graduada, F, estrecha en su porción superior y ancha en la inferior, de una capacidad de 150 cc. de los cuales 40 corresponden a la porción estrecha destinada a recoger y medir el nitrógeno. Esta está en comunicación por el otro extremo con un recipiente de nivelación, que puede subirse y bajarse.

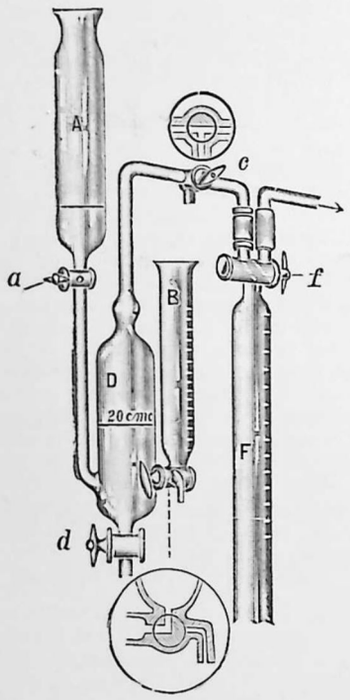


FIG. 14. Aparato de v. SLUKE para la determinación del N amínico. Partes principales. (Tomado de *Journ. of biol. Chem.*, vol. XII)

Los soportes han de estar combinados de manera que la agitación de D vaya acompañada lo menos posible de movimiento en A, para evitar la rotura de las conexiones. Todos los tubos son de vidrio fuerte. También la bureta F debe sustraerse al movimiento. Por medio de una llave *f* puede ponerse en comunicación la bureta F con la pipeta de HEMPEL en lugar de D. Tanto la pipeta de HEMPEL como la ampolla están unidas por medio de un gancho especial a la rueda *h* accionada por un motorcito (3000-4000 revoluciones por minuto, por lo menos; cuando está en marcha, la ampolla D apenas debe verse).

He aquí como se procede:

Expulsión del aire por medio del NO. — Se llena con agua la bureta gasométrica F, haciendo salir el aire por la llave *c*, abierta de manera conveniente; luego se llena una bola de la pipeta de HEMPEL con solución de permanganato (K Mn O_4, 50 gr.; K OH, 25 gr.; agua hasta 1000 cc.). Entonces bajando el embudo de nivelación unido a F, se hace salir todo el aire de la pipeta de HEMPEL, operando de manera que el permanganato llegue hasta *f*; el aire escapa por *c* y el agua queda llenando F y los tubos que salen de la bureta, hasta *c*. Entonces se da vuelta a *c* para cerrar y aislar esta parte del aparato, poniendo en comunicación, por el contrario, D con los tubos que van el exterior.

Se vierte en A y se hace pasar a D una cantidad de ácido acético cristalizable que bastae para llenar $^1/_5$ de D; es conveniente marcar previamente en A el nivel de esta cantidad; el aire escapa, naturalmente, por *c*. Luego se vierte en A la solución de nitrito sódico (30 gr. de Na NO_2 y c. s. de agua hasta 100 cc.) haciéndola pasar a D, hasta que D se llene por completo y esta solución alcance en A un nivel superior al de la llave que posee este recipiente.

Se cierra ahora la salida en *c* y, teniendo abierta *a*, se agita durante algunos segundos (a mano o con el motor) la ampolla D. Inmediatamente se produce NO que se hace salir por *c*. Se vuelve a conectar D con el motor y se agita hasta que en

Miligramos de nitrógeno amínico

t.	728	730	732	734	736	738	740	742	744
11°	0,5680	0,5695	0,5710	0,5725	0,5745	0,5760	0,5775	0,5790	0,5805
12°	0,5655	0,5670	0,5685	0,5700	0,5720	0,5735	0,5750	0,5765	0,5780
13°	0,5630	0,5645	0,5660	0,5675	0,5695	0,5710	0,5725	0,5740	0,5755
14°	0,5605	0,5620	0,5635	0,5650	0,5665	0,5680	0,5700	0,5715	0,5730
15°	0,5580	0,5595	0,5610	0,5625	0,5640	0,5655	0,5670	0,5685	0,5705
16°	0,5555	0,5570	0,5585	0,5600	0,5615	0,5630	0,5645	0,5660	0,5675
17°	0,5525	0,5540	0,5555	0,5575	0,5590	0,5605	0,5620	0,5635	0,5650
18°	0,5500	0,5515	0,5530	0,5545	0,5560	0,5580	0,5595	0,5610	0,5625
19°	0,5475	0,5490	0,5505	0,5520	0,5535	0,5550	0,5565	0,5580	0,5595
20°	0,5445	0,5460	0,5475	0,5495	0,5510	0,5525	0,5540	0,5555	0,5575
21°	0,5420	0,5435	0,5450	0,5465	0,5480	0,5495	0,5510	0,5525	0,5540
22°	0,5395	0,5410	0,5425	0,5440	0,5455	0,5470	0,5485	0,5500	0,5515
23°	0,5365	0,5380	0,5395	0,5410	0,5425	0,5440	0,5455	0,5470	0,5485
24°	0,5335	0,5350	0,5365	0,5380	0,5400	0,5415	0,5430	0,5445	0,5460
25°	0,5310	0,5325	0,5340	0,5355	0,5370	0,5385	0,5400	0,5415	0,5430
26°	0,5260	0,5295	0,5310	0,5325	0,5340	0,5335	0,5370	0,5365	0,5400
27°	0,5250	0,5265	0,5280	0,5295	0,5310	0,5325	0,5340	0,5355	0,5370
28°	0,5220	0,5235	0,5250	0,5265	0,5280	0,5295	0,5310	0,5325	0,5340
29°	0,5195	0,5210	0,5220	0,5235	0,5250	0,5265	0,5280	0,5295	0,5310
30°	0,5160	0,5175	0,5190	0,5205	0,5220	0,5235	0,5250	0,5265	0,5280
	728	730	732	734	736	738	740	742	744

Miligramos de nitrógeno amínico correspondientes a 1 c. c. de gas nitrógeno, entre 11°-30° C : 728-772 mm. de presión

t.	728	730	732	734	736	738	740	742	744	746	748	750	752	754	756	758	760	762	764	766	768	770	772	t.
11°	0,5680	0,5695	0,5710	0,5725	0,5745	0,5760	0,5775	0,5790	0,5805	0,5820	0,5840	0,5855	0,5870	0,5885	0,5900	0,5915	0,5935	0,5950	0,5965	0,5980	0,5995	0,6010	0,6030	11°
12°	0,5655	0,5670	0,5685	0,5700	0,5720	0,5735	0,5750	0,5765	0,5780	0,5795	0,5815	0,5830	0,5845	0,5860	0,5875	0,5890	0,5905	0,5925	0,5940	0,5955	0,5970	0,5985	0,6000	12°
13°	0,5630	0,5645	0,5660	0,5675	0,5695	0,5710	0,5725	0,5740	0,5755	0,5770	0,5785	0,5805	0,5820	0,5835	0,5850	0,5865	0,5880	0,5895	0,5910	0,5930	0,5945	0,5960	0,5975	13°
14°	0,5605	0,5620	0,5635	0,5650	0,5665	0,5680	0,5700	0,5715	0,5730	0,5745	0,5760	0,5775	0,5790	0,5805	0,5825	0,5840	0,5855	0,5870	0,5885	0,5900	0,5915	0,5935	0,5950	14°
15°	0,5580	0,5595	0,5610	0,5625	0,5640	0,5655	0,5670	0,5685	0,5705	0,5720	0,5735	0,5750	0,5765	0,5765	0,5795	0,5810	0,5830	0,5845	0,5860	0,5875	0,5890	0,5905	0,5920	15°
16°	0,5555	0,5570	0,5585	0,5600	0,5615	0,5630	0,5645	0,5660	0,5675	0,5690	0,5710	0,5725	0,5740	0,5755	0,5770	0,5785	0,5800	0,5815	0,5830	0,5850	0,5865	0,5880	0,5895	16°
17°	0,5525	0,5540	0,5555	0,5575	0,5590	0,5605	0,5620	0,5635	0,5650	0,5665	0,5680	0,5695	0,5710	0,5730	0,5745	0,5760	0,5775	0,5790	0,5805	0,5820	0,5825	0,5850	0,5865	17°
18°	0,5500	0,5515	0,5530	0,5545	0,5560	0,5580	0,5595	0,5610	0,5625	0,5640	0,5655	0,5670	0,5685	0,5700	0,5715	0,5730	0,5745	0,5765	0,5780	0,5795	0,5810	0,5825	0,5840	18°
19°	0,5475	0,5490	0,5505	0,5520	0,5535	0,5550	0,5565	0,5580	0,5595	0,5610	0,5630	0,5645	0,5660	0,5675	0,5690	0,5705	0,5720	0,5735	0,5750	0,5765	0,5780	0,5795	0,5810	19°
20°	0,5445	0,5460	0,5475	0,5495	0,5510	0,5525	0,5540	0,5555	0,5575	0,5585	0,5600	0,5615	0,5630	0,5645	0,5660	0,5675	0,5690	0,5705	0,5725	0,5740	0,5755	0,5770	0,5785	20°
21°	0,5420	0,5435	0,5450	0,5465	0,5480	0,5495	0,5510	0,5525	0,5540	0,5555	0,5575	0,5590	0,5605	0,5620	0,5635	0,5650	0,5665	0,5680	0,5695	0,5710	0,5725	0,5740	0,5755	21°
22°	0,5395	0,5410	0,5425	0,5440	0,5455	0,5470	0,5485	0,5500	0,5515	0,5530	0,5545	0,5560	0,5575	0,5590	0,5605	0,5620	0,5635	0,5650	0,5665	0,5680	0,5695	0,5715	0,5730	22°
23°	0,5365	0,5380	0,5395	0,5410	0,5425	0,5440	0,5455	0,5470	0,5485	0,5500	0,5515	0,5530	0,5545	0,5560	0,5575	0,5595	0,5610	0,5625	0,5640	0,5650	0,5670	0,5685	0,5700	23°
24°	0,5335	0,5350	0,5365	0,5380	0,5400	0,5415	0,5430	0,5445	0,5460	0,5475	0,5490	0,5505	0,5520	0,5535	0,5550	0,5565	0,5580	0,5595	0,5610	0,5625	0,5640	0,5655	0,5670	24°
25°	0,5310	0,5325	0,5340	0,5355	0,5370	0,5385	0,5400	0,5415	0,5430	0,5445	0,5460	0,5475	0,5490	0,5505	0,5520	0,5535	0,5550	0,5565	0,5580	0,5595	0,5610	0,5625	0,5640	25°
26°	0,5260	0,5295	0,5310	0,5325	0,5340	0,5335	0,5370	0,5365	0,5400	0,5415	0,5430	0,5445	0,5460	0,5475	0,5490	0,5505	0,5520	0,5535	0,5550	0,5565	0,5580	0,5595	0,5610	26°
27°	0,5250	0,5265	0,5280	0,5295	0,5310	0,5325	0,5340	0,5355	0,5370	0,5385	0,5400	0,5415	0,5430	0,5445	0,5460	0,5475	0,5490	0,5505	0,5520	0,5535	0,5550	0,5565	0,5580	27°
28°	0,5220	0,5235	0,5250	0,5265	0,5280	0,5295	0,5310	0,5325	0,5340	0,5355	0,5370	0,5385	0,5400	0,5415	0,5430	0,5445	0,5460	0,5475	0,5490	0,5505	0,5520	0,5535	0,5550	28°
29°	0,5195	0,5210	0,5220	0,5235	0,5250	0,5265	0,5280	0,5295	0,5310	0,5325	0,5340	0,5355	0,5370	0,5385	0,5400	0,5415	0,5430	0,5445	0,5460	0,5475	0,5490	0,5505	0,5520	29°
30°	0,5160	0,5175	0,5190	0,5205	0,5220	0,5235	0,5250	0,5265	0,5280	0,5295	0,5310	0,5325	0,5340	0,5355	0,5370	0,5385	0,5400	0,5415	0,5430	0,5445	0,5460	0,5475	0,5490	30°
	728	730	732	734	736	738	740	742	744	746	748	750	752	754	756	758	760	762	764	766	768	770	772	

D se haya desprendido tanto gas (ácido nitroso) que unos 20 cc. de líquido de D sean empujados hacia A. Sobre la superficie de D está marcado el nivel a que debe corresponder este volumen de 20 cc. Entonces se cierra *a* y se da vuelta a *c* y a *f* de manera que D quede en comunicación con F.

Desprendimiento del N *de los grupos amínicos.* — Se miden en B 10 cc. por lo menos de la solución que se examina : el tubo de expulsión permite eliminar el exceso posi-

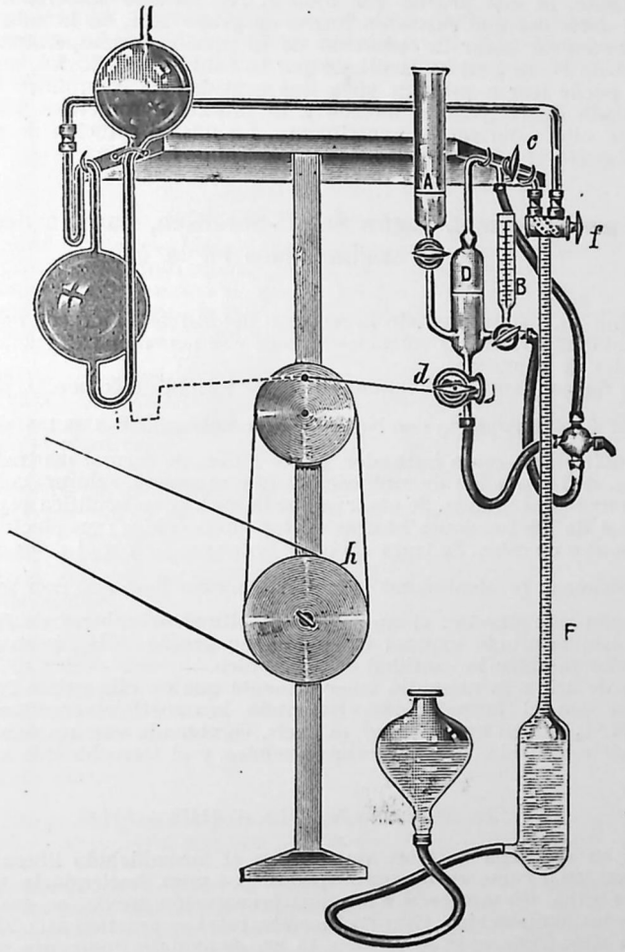


FIG. 15. Aparato de *V. Slyke* para la determinación del N amínico. Disposición de conjunto. Tomada de *Plimmer*, Practical organ a. biochem, 1918.

ble. La cantidad deseada se hace pasar a la ampolla D, ya conexionada con el motor : generalmente basta (mezclas de aminoácidos, proteínas, proteínas hidrolizadas) agitar unos cinco minutos. Solamente se necesita más tiempo para ciertas proteínas que coagulan durante el proceso de desaminación. Si se forma espuma que amenaza pasar a F, se añade por B un poco de alcohol caprílico. Para las aminopurinas el tiempo de reacción es largo : entonces se agita un poco, luego se deja en reposo durante algún tiempo y, finalmente, se vuelve a agitar. Para soluciones que fácilmente forman espuma, es conveniente añadir el alcohol caprílico *antes* que la substancia. Durante la reacción el gas (nitrógeno) pasa de D a F.

Absorción del óxido de nitrógeno y medición del nitrógeno. — Acabada la reacción, el gas aun reunido en D se pasa *todo* a F, abriendo *a* y vertiendo en A solución que pasa así a D, llegando hasta *c*. Ahora se da vuelta a la llave *f* de manera que se

pongan en comunicación la bureta gasométrica F con la pipeta de HEMPEL: levantando el embudo de nivel se expulsa el gas hacia esta pipeta; entonces se conexiona ésta (y ya no D) con el motor y se agita durante un minuto, que basta para fijar todo el NO. Luego vuelve a bajarse el embudo de nivel, el gas se vuelve a llevar a F, y entonces, habiendo sido absorbido todo el NO, no queda más que el N, que puede medirse. Es bueno repetir una o dos veces el retorno del gas a la pipeta de HEMPEL y la agitación de ésta, asegurándose así con dos lecturas de que el volumen del gas en F es constante, lo que prueba que todo el NO ha sido absorbido. El nitrógeno obtenido es el *doble* del que existe en forma de grupo NH_2 en la substancia que se examina. Es necesario hacer la reducción de la presión y temperatura para calcular la cantidad de N, lo cual es facilitado por la tabla de V. SLYKE, aquí transcrita, en la cual se puede leer a primera vista qué cantidad de N amínico corresponde a un volumen dado de N gaseoso, medido a la presión barométrica y a la temperatura a que esté sujeto durante el experimento. La misma solución de permanganato sirve para varias (10-11) determinaciones (Véase Tabla I).

10. Método por el formol, según Schiff-Sorensen, para la determinación de los aminoácidos en la orina

En la página 93, hemos ya visto la reacción del formaldehido con los aminoácidos, gracias a la cual desaparecen las valencias básicas y se ponen en evidencia las valencias ácidas residuales de la mezcla.

Se necesita formol neutro; se toman 10 cc. de formol de comercio, se diluyen con 20 cc. de agua y se neutralizan con NaOH $\frac{n}{10}$, empleando 6-8 gotas de solución alcohólica de fenolftaleína como indicador. Estos 10 cc. de formol neutralizado se añaden a 20-25 cc. de la solución de aminoácidos que se quiere valorar, colocados en un matracito o en una copa grande. Se observa que la mezcla se acidifica repentinamente, por la supresión de las funciones básicas de los aminoácidos; en efecto, sólo quedan libres los carboxilos de éstos. Se trata ahora de hacer reaparecer el color rosa, es decir, de volver a alcanzar la alcalinidad a la fenolftaleína haciendo caer solución $\frac{n}{10}$ de sosa cáustica con una bureta: el número de centímetros cúbicos de ésta necesarios para obtener este resultado expresa la riqueza en grupos NH_2, y en función de él se puede calcular también la cantidad de N amínico.

Si se trata de orina, es necesario tener presente que en ella existe NH_3 que también reacciona con el formaldehido, formando hexametilentetramina (urotropina) y hasta, si el NH_3 está en forma de sal, es decir, combinado con un ácido, se obtiene la liberación de este ácido. Así, el cloruro amónico y el formaldehido reaccionan de esta manera:

$$4NH_4Cl + 6CH_2O = N_4(CH_2)_6 + 4HCl + 6H_2O.$$

Se ve que en presencia de sales amoniacales el formaldehido libera las valencias ácidas de éstas, igual como en los aminoácidos. Así pues, haciendo la valoración por el formol en la orina, sin someterla a ninguna preparación previa, se dosifica: N amoniacal + N de los aminoácidos. Esta dosificación total se practica así: 25 cc. de orina se diluyen con otros 25 de agua, se añaden 15 gr. de oxalato finamente pulverizado (1) y 4-5 gotas de fenolftaleína. Agitar bien durante unos dos minutos y añadir NaOH $\frac{n}{10}$ hasta débil color rosado. A esta orina neutralizada se añaden los 10 cc. de formol diluídos con 20 cc. de agua y neutralizados como antes: desaparece el color rosa, por aparición de las valencias ácidas, que se valoran como ya se ha dicho. De esta cifra total del N amoniacal y de los aminoácidos puede restarse el N del NH_3 determinado directamente por el método de FOLIN por aireación de la orina alcalinizada (véase número 22) obteniéndose así el N de los aminoácidos solamente. Una vez hecha la determinación del NH_3 con aquel método también se puede aprovechar el residuo

(1) Este procedimiento ha sido también propuesto por FOLIN para dosificar la acidez urinaria por volumetría: el oxalato tiene por objeto precipitar las sales de cal que de otro modo, al alcalinizar, precipitarían a su vez los fosfatos, perturbando profundamente el equilibrio iónico y eliminando precisamente con los fosfatos los factores principales de la reacción urinaria.

alcalinizado y exento de NH_3 contenido en la probeta alta del dispositivo de FOLIN (número 22), recogiéndolo enteramente (lavando el recipiente y añadiéndole las aguas de lavado) filtrando el total, neutralizando (con HCl $\frac{n}{5}$) a la fenolftaleína y sometiéndolo al método por el formol como un líquido cualquiera. Pero como los aminoácidos son escasos, no es suficiente haber partido de 25 cc., sino que es necesario haber tomado por lo menos 50 cc. de orina.

BENEDICT y MURLIN (1) han propuesto dosificar los aminoácidos por el formol previa precipitación del amoníaco y otras substancias básicas con ácido fosfotúngstico (solución al 10 % en HCl al 2 %: para los detalles, remitimos al trabajo original).

11. Determinación de los aminoácidos en la sangre según Folin (2)

FOLIN, buscando una reacción coloreada apropiada para los aminoácidos, encontró que éstos dan un color rojo intenso con el ácido β-naftoquinonsulfónico en líquido alcalino. La urea no da la reacción, que es mucho más específica que la de la ninhidrina; el amoníaco la determina, pero es fácil eliminar este componente de la sangre que, por lo demás, es escaso. El indol da con el ácido β-naftoquinonsulfónico una coloración azul.

Se necesitan las siguientes soluciones:

a) Una solución reciente de β-naftoquinonsulfonato sódico al 0,5 %. Este compuesto puede prepararse, según FOLIN, recurriendo al siguiente procedimiento. Se necesitan los siguientes reactivos:

1 litro de H_2SO_4 10 % (enfriado).
100 cc. de HNO_3 concentrado.
500 cc. de HCl concentrado.
300 cc. de solución de NaOH 10 %.
2 litros de solución de NaCl 10 %.
1 cc. de bromo.
50 gr. de nitrito sódico.
100 gr. de nitrato sódico.
50 gr. de sulfito sódico.
100 gr. de bisulfito sódico.
400 gr. de bórax.
100 gr. de β-naftol puro.
2 litros de alcohol.
200 cc. de éter.

Se colocan 100 gr. de β-naftol puro en un recipiente de litro, se le añaden 300 cc. de Na OH al 10 % y se agita con una varilla de vidrio hasta solución perfecta (10-15 minutos).

En otro recipiente de 4 litros se ponen 50-55 gr. de nitrito sódico con 600 cc. de agua y se agita hasta disolución (3-5 minutos).

La solución alcalina de β-naftol se vierte en la de nitrito, lavando el primer recipiente con 100 cc. de agua y pasándolo todo al segundo. Entonces en éste, que contiene β-naftol y nitrito, se echan 800 gr. de hielo machacado.

Se miden en una probeta graduada 200 cc. de solución al 10 % de H_2SO_4, fría, y se dejan caer lentamente en el recipiente grande que contiene la mezcla, haciendo deslizar el ácido a lo largo de las paredes y agitando continuamente la mezcla con una varilla fuerte de vidrio. En uno o dos minutos debe haberse añadido todo el H_2SO_4; sin embargo, se continúa agitando durante dos minutos más; se vuelve a llenar la probeta graduada con 200 cc. de H_2SO_4 al 10 % y frío, y se

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XVI, pág. 386.

(2) *Id.*, vol. LI, pág. 377, 1922. Este método es bastante complejo, no en sí, sino por la preparación de los reactivos, y su exposición sale un poco de los límites de este libro. Pero lo incluímos porque el estudio de los productos más sencillos del metabolismo nitrogenado, y especialmente de los aminoácidos, en la sangre adquieren cada día más importancia y quizá está destinado a un mayor desarrollo en el porvenir: véase, por ejemplo, a propósito de la reacción de WASSERMANN.

añade de la misma manera; estas adiciones de 200 cc. de ácido sulfúrico se repiten hasta que se hayan empleado en conjunto 800 cc. Después de esto, la mezcla debe presentar reacción ácida *persistente* con papel de rojo Congo; toda la operación ha de durar exactamente 15-20 minutos.

Durante la adición del ácido se forma un precipitado amarillo, que aumenta progresivamente hasta que todo el material del recipiente se transforma en una pasta semisólida, con un color que tiende ligeramente al verde (si es verde pronunciado, el rendimiento es menor y es señal de que las condiciones de la reacción son imperfectas).

Dejar en reposo por lo menos *una hora* después de la última adición de ácido, *no menos* de este tiempo, si se quiere que no quede β-naftol; prolongar el reposo por más tiempo no resulta perjudicial, pero es inútil.

Filtrar por un embudo de BUCHNER (filtro de porcelana con una lámina perforada cubierta con papel de filtro duro y humedecido, a propósito para recoger precipitados abundantes, pesados y cristalinos) de 20 cm., a presión moderada; lavar el precipitado con un litro y medio de agua fría. El precipitado (de nitroso-β-naftol) se extiende en una ancha cápsula de evaporación y sobre él se esparcen 100 gr. de bisulfito sódico y 50 gr. de sulfito sódico. Se mezclan con una espátula de vidrio o esmaltada. El precipitado se disuelve, porque con el bisulfito se forma un compuesto solubilísimo. Se filtra por otro embudo de BUCHNER de 12-15 cm., con dos capas de buen papel de filtro; queda en el filtro un pequeño residuo negro, que se lava con poca agua, la cual se añade al filtrado. Este se traslada en seguida a un matraz de 5 litros o a un recipiente grande, de color, que contenga ya 2000 cc. de agua y 500 cc. de HCl concentrado. Se tapa con un embudo y uno o dos vidrios de reloj y se deja durante 36 horas en un lugar oscuro.

El recipiente se llena de un retículo de agujas blancas, con unas pequeñas impurezas negras o rojas, tanto más abundantes cuanto más ha estado expuesto el material a la luz. Filtrar por un embudo de BUCHNER de 20 cm. de diámetro y lavar con 2 litros de agua fría: la substancia así recogida y lavada es ácido aminonaftolsulfónico. Este se recoge en un recipiente grande de 3-4 litros de capacidad, se extiende bien y se espolvorea con 100 gr. de nitrato sódico. Se diluyen 100 cc. de ácido nítrico concentrado en 350 cc. de agua, y esta solución ácida tibia se vierte en el recipiente.

Se desprenden vapores de NO y se desarrolla una viva reacción que se deja que continúe produciéndose durante 10 minutos; entonces se vuelve a mezclar bien durante algunos minutos y se deja en reposo otros 20-30 minutos. Si no se observa reacción visible, es señal de que el nitrato no era puro, sino que contenía carbonato; en este caso se puede añadir 1-5 cc. de HNO_3 concentrado. Al cabo de media hora se filtra por un embudo de BUCHNER de 15 cm. de diámetro y se lava con 1 litro, aproximadamente, de NaCl al 10 %; en el filtro queda una substancia parda que es la sal sódica del ácido 1-2-4 naftoquinonsulfónico que queremos obtener; pero no es pura, sino que contiene productos coloreados de descomposición, así como amoníaco. Es necesario, pues, proceder a purificarla.

Con este fin el precipitado aun húmedo se coloca en una cápsula grande de porcelana y se le añaden 200 gr. de bórax en polvo y 450 cc. de agua. Con un agitador se mezcla bien, hasta disolución casi completa (residuo de algunos copos de quinona). Se filtra sobre buen papel en un embudo de BUCHNER de 10 cm. para separar el exceso de bórax y los copos oscuros no disueltos. Lavar con 100-150 cc. de agua. La filtración es un poco lenta; no hay que aspirar demasiado fuertemente. Mientras filtra se ponen en un matraz 850 cc. de alcohol al 95 % y 150 cc. de HCl concentrado, se cubre el cuello del matraz con un vaso invertido y se enfría bajo el grifo. El filtrado de quinona-bórax se coloca en un recipiente grande de 4 litros; en el matraz con el alcohol acifidicado y enfriado se ponen algunas gotas de bromo líquido, se agita hasta disolución, y entonces se vierte el contenido del matraz (de color pajizo) en la mezcla de quinona-bórax, agitando enérgicamente; dejar en reposo 5 minutos: la quinona precipita completamente. Se filtra otra vez por un filtro de BUCHNER de 15 cm., y se lava el precipitado con 700-800 cc. de solución de NaCl al 10 %.

El preparado así obtenido está suficientemente exento de substancias colorantes, pero aun contiene amoníaco y es necesario repetir otra vez la cristalización, de manera exactamente igual, omitiendo el lavado del filtro con la solución cloruradosódica y sustituyéndolo por un lavado con alcohol (300-400 cc.) y éter (200 cc.). Se obtiene así 75-90 gr. de quinona suficientemente pura, que sirve para preparar el *reactivo de los aminoácidos:* FOLIN aconseja los siguientes ensayos de la pureza del producto.

Color: una solución reciente al 1 % en agua, debe dar en el colorímetro de DUBOSCQ 26-27, si se compara con una solución de bicromato potásico $^1/_2$ *n* colocada a 20.

Productos coloreados de descomposición: se colocan en una probeta 2 cc. de la misma solución al 1 % de quinona y se completa a 25 cc. con agua. Entonces se añade 1 cc. de ácido acético al 50 % y luego 1 cc. de solución al 15 % de tiosulfato sódico. La solución debe decolorarse en pocos segundos, quedando un color amarillento apenas visible si se mira la probeta en el sentido de su longitud.

Amoníaco: se colocan en un matraz 10 cc. de la solución quinónica, se añaden 2 gr. de permutita y se agita durante 3-4 minutos. Se decanta y se lava 4-5 veces con agua destilada, hasta que haya desaparecido todo el color amarillo; entonces se añade al polvo de permutita unas gotas de hidrato sódico al 10 %, 5 cc. de agua y 5 cc. de reactivo de NESSLER. No debe haber coloración amarilla.

b) Solución de carbonato sódico: 50 cc. de solución casi saturada se diluyen hasta 500 cc.; esta solución así obtenida se valora (rojo de metilo como indicador) con 20 cc. de solución $\frac{n}{10}$ de HCl. Entonces se diluye la solución de carbonato de manera que 8,5 cc. de ésta equivalgan a 20 cc. de ácido $\frac{n}{10}$: resulta así una solución de carbonato al 1 % aproximadamente.

c) Solución de ácido acético-acetato sódico: 100 cc. de ácido acético al 50 % se diluyen en un volumen igual de solución de acetato sódico al 5 %.

d) Solución al 4 % de tiosulfato sódico (cristalino): sirve para destruir la quinona en exceso después de la reacción con los aminoácidos (porque por ser coloreada, estorbaría la lectura).

e) Solución tipo de aminoácidos: solución de glicocola, leucina o fenilalanina, que contenga 0,07 mgr. de N por cc. FOLIN prefiere la glicocola, pero pueden también emplearse los otros. La cistina da un color demasiado amarillo. El aminoácido se disuelve en solución de HCl $\frac{n}{10}$ y se completa hasta el volumen necesario, previa adición de 0,2 % (del volumen total) de benzoato sódico. La solución se conserva bien. Se aconseja hacer una solución con 0,1 mgr. de N por centímetro cúbico y en cada caso tomar 70 cc. y completar hasta 100 con HCl $\frac{n}{10}$, obteniéndose así el tipo necesario con 0,07 mgr. de N. Como la glicocola contiene 18,68 % de N, con 0,5353 gr. de este aminoácido en 1000 cc. de volumen total se obtiene una solución que contiene 0,1 mgr. de N por centímetro cúbico.

La *ejecución del análisis*, una vez preparados todos estos reactivos, es bastante sencilla:

Se colocan 10 cc. del filtrado de sangre desalbuminada (según FOLIN-WU) en un tubo aforado a 25 cc. En otro igual se coloca 1 cc. de la solución tipo *e*), y a cada uno se añade una gota de fenolftaleína. Al tubo que contiene el tipo se agrega 1 cc. de solución de carbonato sódico *b*); en el que contiene la sangre se echa la misma solución a gotas, generalmente 6-8 gotas, hasta que se obtenga la misma coloración rosada que en el otro. Entonces se añade a cada uno de los tubos 2 cc. de la solución recientemente preparada al 0,5 % de quinona *a*). Se agita bien y se deja en reposo, en la *oscuridad completa*, hasta el día siguiente. Luego se añade a cada tubo 2 cc. de solución *c*) y 2 cc. de solución *d*); así se decolora el exceso de reactivo. Se llena cada tubo hasta 25 cc. y se agita.

Colorimetría: el cálculo es fácil; si en el colorímetro se lee 20 para la solución tipo y *n* para la de sangre, la respectiva riqueza en N de los aminoácidos estará en la proporción $1/_{20} : 1/n$; pero si en el tipo hay 0,07 mgr. de N por 100 cc., en la solución de sangre este N estará determinado por la proporción:

$$\frac{1}{20} : \frac{1}{n} = 0{,}07 : x\,; \text{ de donde: } x = \frac{20}{n} \times 0{,}07\,;$$

y ésta será la cantidad existente en 1 cc. de sangre (en efecto, se han tomado 10 cc. de filtrado desalbuminado, que equivalen a 1 cc. de sangre). En 100 cc. de sangre tendremos $\frac{20}{n} \times 7$ mgr. de N de los aminoácidos (valores normales hallados con este método: 6-8 mgr. de N de los aminoácidos por 100 cc. de sangre).

12. Determinación de la urea en la orina por el método del hipobromito

No es muy exacto, porque además de la urea, también el ácido úrico, el amoníaco y la creatinina dan, con el hipobromito, pequeñas cantidades de N que vienen a aumentar el obtenido de la urea. De todas maneras, éste es el método clásico para la investigación clínica, aun cuando actualmente tiende a ser sustituído por el de la ureasa, que es mucho más específico (véase más adelante).

La reacción es la indicada en la pág. 206: de los dos gases desarrollados por la reacción, el CO_2 es absorbido por el álcali del reactivo y el N es medido. El mejor aparato es quizá el de DUPRÉ, fácil de improvisar en cualquier sitio (fig. 16). El reactivo se prepara disolviendo 100 gr. de sosa cáustica en 250 cc. de agua, dejando enfriar y añadiendo 25 cc. de bromo: se obtiene así el hipobromito en solución alcalina.

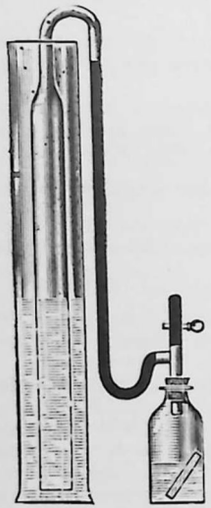


FIG. 16. Ureómetro de *Dupré*

Este reactivo debe ser preparado recientemente. Se colocan 25 cc. de él en un frasco de unos 120 cc. de capacidad aproximadamente; se miden exactamente 5 cc. de orina y se colocan en un tubito que se pone vertical dentro de la misma botella, cuidando de que no entre el reactivo hasta el momento preciso. La botella va bien tapada con un tapón de goma por el cual pasa un tubo de vidrio con una rama lateral en forma de T. Una de las ramas va cerrada por un tubo de goma con una pinza; la otra rama comunica por medio de un tubo de goma largo con una bureta graduada, sumergida en el agua de una probeta de cristal bien alta. La bureta, abriendo y cerrando convenientemente la pinza dicha, se llena de agua hasta el principio (arriba) de la graduación, de manera que el agua ocupe dentro y fuera el mismo nivel. Se comprueba el cierre perfecto de la pinza y el cierre hermético del sistema, levantando y bajando durante algunos minutos la bureta y comprobando si el agua vuelve, después de estas maniobras, al punto de partida (comienzo de la graduación: *leer cuidadosamente)* tanto fuera como dentro de la bureta. Ahora puede hacerse el análisis: se toma la botella y se sacude de manera que caiga el tubito con la orina y ésta se mezcle bien con el reactivo. Se desprende N que desaloja agua de la bureta. Sin embargo, es necesario esperar, para hacer la lectura, que la temperatura se haya equilibrado nuevamente (es conveniente tener la botella, antes y después, en agua fresca); entonces se mueve la bureta hasta que el nivel del agua sea el mismo dentro y fuera, y se *lee* en la graduación el nivel encontrado. La diferencia de nivel del agua dentro de la bureta antes y después de la reacción (a presión igual, porque se ha tenido cuidado de colocar siempre el nivel de la bureta a igual altura que fuera de ella, lo cual quiere decir que siempre se ha restablecido la presión atmosférica) dará el volumen de N desarrollado.

Es necesario ahora que este volumen, medido a la presión atmosférica del momento de la observación y a la temperatura del laboratorio, sea reducido a la presión de 760 mm. de Hg y a la temperatura de O°. Del volumen leído en el aparato se calcula el volumen reducido por medio de la fórmula siguiente:

$$\text{Volumen a O° y a 760 mm.} = \frac{\text{Volumen leído} \times 273 \times (B - T)}{(273 + t) \times 760}$$

en la cual B es la presión barométrica del momento, T es la tensión del vapor acuoso a la temperatura del laboratorio (véase más adelante) y t es la temperatura. Obtenido así el volumen de N a presión o temperatura normales, fijémonos en que 60 gr. (o sea el peso molar) de urea producen una molécula-gramo de nitrógeno (N_2), esto es, 28 gr. de N, que, a presión y temperatura normales, ocupan 22,4 litros; 1 gr. de urea corresponde, por lo tanto, a $\frac{22{,}400}{60} = 373$ cc. aproximadamente, de gas. De aquí se deduce que cada centímetro cúbico de gas, a presión y temperatura normales, corresponde a 0,0029 gr. de urea.

De la cantidad de urea contenida en 5 cc. de orina, es fácil deducir la de 100 ó 1000 cc. En realidad, 1 gr. de urea solamente desarrolla 354-355 cc. de nitrógeno:

también es ésta una imperfección del método que, sin embargo, influye en los análisis de orina en sentido opuesto al del ataque de las substancias nitrogenadas distintas de la urea.

He aquí algunos valores de T (tensión del vapor de agua) para las temperaturas más corrientes en los laboratorios:

Temperatura	Presión del vapor acuoso en mm. de Hg.	Temperatura	Presión del vapor acuoso en mm. de Hg.
10	9,2	20	17,4
10,5	9,5	20,5	17,9
11	9,8	21	18,5
11,5	10,1	21,5	19,1
12	10,5	22	19,7
12,5	10,8	22,5	20,3
13	11,2	23	20,9
13,5	11,5	23,5	21,5
14	11,9	24	22,3
14,5	12,3	24,5	22,9
15	12,7	25	23,5
15,5	13,1	25,5	24,3
16	13,5	26	25,0
16,5	14,0	26,5	25,7
17	14,4	27	26,5
17,5	14,9	27,5	27,3
18	15,4	28	28,1
18,5	15,8	28,5	28,9
19	16,3	29	29,8
19,5	16,9	29,5	30,7

13. Método para la determinación de la urea en la orina y en la sangre, según Marshall (1), con la modificación de van Slyke y G. Cullen (2).

Se funda en el empleo de la *ureasa*, enzima altamente específica, que descompone la urea en CO_2 y NH_3, y en la determinación de este último por nesslerización y colorimetría o, mejor, fijándolo con una cantidad conocida de ácido y valorando el ácido restante. La enzima fué hallada por TAKEUCHI en las semillas de una leguminosa (glicinia ispida) llamada soja; se encuentra también en las semillas de otras plantas (judías, arroz, avena, ricino, etc.), pero parece que la de la soja es la más específica. La proporciona la «Arlington Chemical Company» de New-York, con el nombre de «Arlco-Ureasa». Es un polvo blanquecino, tendiendo un poco a amarillo; se emplea en solución al 10 %, mezclando 1 gr. de enzima con 10 cc. de agua y añadiendo ésta en pequeñas porciones para disolver mejor la enzima; se obtiene así una solución opalescente. Las soluciones se hacen y emplean en el mismo día; solamente si se mantienen a 0° puede garantizarse una conservación de varias semanas. La enzima necesita para actuar una reacción neutra, por lo cual se añade un poco de fosfato ácido que impide la alcalinización del medio por efecto del desarrollo de NH_3.

El NH_3 formado se extrae de la mezcla añadiendo una substancia alcalina (carbonato potásico) que lo desaloje, y después es aspirado hacia una solución ácida de acidez conocida. La aspiración se hace por medio del sistema de tubos de FOLIN: se trata de un sencillo dispositivo que se puede emplear siempre que se quiera hacer pasar una corriente de aire a través de un líquido. Consta de varios tubos de ensayo cerrados con tapones de goma atravesados por dos tubos, uno que llega al fondo y otro que no pasa de la parte alta. Los tubos están doblados en ángulo recto por encima del tapón. El tubo largo de un tubo de ensayo comunica con el tubo corto de otro por medio de buenos enlaces de goma (bien impermeables y herméticos). En el caso presente deben ser tres los tubos de ensayo (véase fig. 17): uno, que sirve para lavar el aire exterior (que contiene indicios de NH_3 que deben ser absorbidos por

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XIV, XV.
(2) *Id.*, vol. XIX, pág. 211.

medio de H_2SO_4); un tubo A que sirve para la reacción de la ureasa sobre la orina o sobre la sangre y para el desprendimiento del NH_3; otro (tubo B) que sirve para recoger el NH_3 en una solución ácida de valor conocido. El tubo corto que sale de este último tubo de ensayo comunica con una trompa de agua. Para la orina se procede de la siguiente manera: con una pipeta de OSTWALD se mide en el tubo A ½ cc. de orina. Se añaden después 5 cc. de solución al 0,6 % de KH_2PO_4 (bien medidos) y 1 cc. exacto de solución al 10 % de ureasa. Se mezcla, se agregan 2 gotas de alcohol caprílico o amílico para impedir la formación de espuma y se deja desarrollar la reacción, después de tapar (20 minutos a la temperatura de 15°; 15 minutos a temperatura de 20° o más). Vale más excederse en el tiempo de acción de la ureasa que interrumpir el efecto de ésta demasiado pronto. Mientras tanto se prepara el tubo B: se miden en él 25 cc. de ácido sulfúrico $\frac{n}{50}$, se añade como indicador una gota de alizarinsulfonato sódico al 1 %, luego se conecta A con el tubo lavador, que contiene ácido sulfúrico comercial diluído, y después se une A con B. Acabada la acción de la ureasa, se hace pasar durante medio minuto la corriente de aire a través de los tres tubos para recoger en B la pequeña cantidad de NH_3 gaseoso que pueda haberse desprendido y reunido en A durante la acción de la ureasa. Entonces se destapa A y rápidamente se echan en él, con una cuchara, 4-5 gr. de carbonato potásico sólido. Se vuelve a tapar y se hace pasar aire durante el tiempo necesario (que depende de la fuerza de la trompa de que se dispone): con una buena trompa pueden bastar 5 minutos, pero también vale más pecar por exceso. Empléese al principio una corriente débil, que se refuerza después. Finalmente, se valora el exceso de ácido (esto es, el ácido no neutralizado por el amoníaco) que ha quedado en B, por medio de solución $\frac{n}{50}$ de Na OH. Cálculo: el número de cc. de ácido neutralizados por el NH_3 (es decir, 25 *menos* el número de cc. de alcalí $\frac{n}{50}$ que se han necesitado para la neutralización completa) multiplicados por 0,056 da los gramos de nitrógeno de la urea *y* del NH_3 contenidos en 100 cc. de orina (1). Para obtener *solamente* de N ureico es preciso repetir, con el mismo aparato, la determinación del NH_3 preexistente en la orina: se ponen 5 cc. de orina en A, se añade carbonato potásico *en seguida*, naturalmente, no se agrega fosfato ni ureasa: hágase pasar la corriente de aire. El ácido neutralizado en B se multiplica por 0,0056 para tener la cantidad por ciento de N amoniacal. Esta determinación complementaria puede hacerse al mismo tiempo, con un par de tubos más unidos al mismo tubo lavador y a la misma trompa. Las orinas de carnívoros se diluyen, pues como contienen grandes cantidades de urea, las dosis corrientes de ureasa no la descompondrían enteramente.

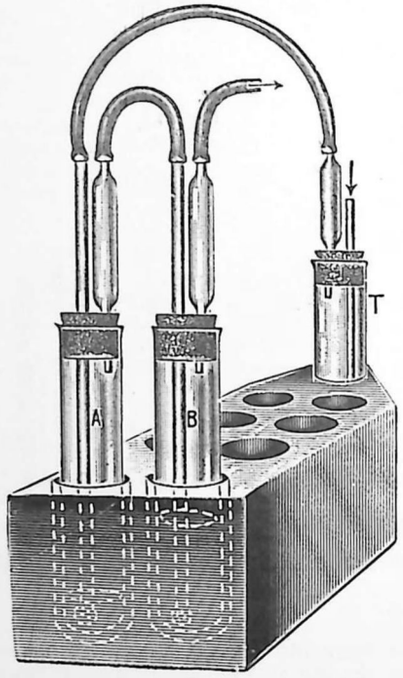


FIG. 17. Dispositivo para medir el contenido en urea empleando el método de la ureasa, según v. *Slyque* y *Cullen (Journ. of biol. Chem.*, vol. XIX, página 217)
T, tubo lavador; A, tubo que sirve para la reacción; B, tubo conteniendo la solución ácida titulada para recoger y determinar el NH_3

(1) En efecto: 1 cc. de solución *normal* corresponde a 0,014 gr. de N amoniacal (una solución normal de NH_2 contendría 17 gr. de NH_3 y, por lo tanto, 14 gr. de N en 1000 de agua); 1 cc. de solución $\frac{n}{50}$ correspondería a 0,00028 gr. de N. Pero como se ha partido de 0,5 cc. de orina, el factor para calcular el tanto por ciento será de 0,00028 × 200 = 0,056.

Para la sangre: si se analiza en fresco, la cantidad de NH_3 que contiene es despreciable. La sangre, una vez extraída, se mezcla con el 1 % de su peso de citrato potásico sólido y se emplea dentro de la primera hora. Se m den 3 cc. de esta sangre (o líquido céfalo-raquídeo, trasudado, etc.) y se mezclan en A con 3 cc. de solución al 0,6 % de KH_2PO_4 y con 1 cc. de solución al 10 % de ureasa; además se añaden 5 gotas de alcohol amílico o caprílico. Se deja la mezcla durante 10 minutos para que reaccione. Entre tanto, se miden en B 15 cc. de ácido $\frac{n}{100}$; se continúa como antes, con la única diferencia de que se valora el ácido restante con NaOH $\frac{n}{100}$: cada cc. de ácido fijado por el NH_3 corresponde a 0,01 gr. de urea por ciento. Por lo tanto, el número de cc. de álcali $\frac{n}{100}$ necesarios para neutralizar el NH_3 desarrollado × 0,01 = gramos de urea con 100 cc. de sangre; igualmente, N ureico en 100 cc. de sangre = cc. de álcali necesarios para neutralizar el NH_3 desarrollado × 0,00466. En caso de que se obtuvieran valores altos para la urea, que excedan del 0,15 %, habrían sido neutralizados por completo los 15 cc. de ácido $\frac{n}{100}$ colocados en el tubo B, y el indicador viraría durante el paso de la corriente de aire. En tal caso, es mejor repetir el análisis, empleando 15 cc. de ácido $\frac{n}{50}$, en vez de $\frac{n}{100}$.

14. Determinación de la urea de la sangre por medio de la escisión en el autoclave

Se utiliza el filtrado desalbuminado por el método de FOLIN-WU (núm. 3): a 5 cc. de éste se añade (en un tubo grueso y resistente) 1 cc. de H_2SO_4 normal. Se cubre la boca del tubo con papel de estaño. Se coloca durante 10 minutos al autoclave a 150°. Se deja enfriar el autoclave hasta menos de 100°, después de lo cual se abre. La urea se ha transformado en NH_3 y CO_2, y en el líquido puede dosificarse el NH_3 por nesslerización y colorimetría comparándolo con un líquido tipo de riqueza conocida (como para el N total, véase n.° 6) o extrayéndolo por medio de una corriente de aire en un sistema de tubos, según FOLIN, como en el método de v. SLYKE y CULLEN (número precedente).

15. Método de determinación directa (sin desalbuminación previa) de la urea en la sangre, según Myers-Gettler (1)

La sangre oxalatada se trata directamente con la ureasa como en el método de v. SLYKE-CULLEN, n. 13); *después* se hace la precipitación de las proteínas por el método de FOLIN-WU (n.° 3) y se determina el NH_3 por nesslerización y colorimetría.

Se procede de la manera siguiente: en un ERLENMEYER de unos 100 cc. se colocan 0,1 gr. de ureasa en substancia, 2 cc. de sangre oxalatada, bien medida con pipeta de OSTWALD, y 14 cc. de agua. Mezclar, mantenerlo durante 15 minutos a 50° en baño-maría. Se añaden 2 cc. de solución al 10 % de tungstato sódico y, agitando continuamente, 2 cc. de H_2SO_4 ⅔ *n*. Agitar. Debe haber un cambio de coloración (en oscuro), sin formación de espuma y un cierto sonido metálico al agitar, si la precipitación de las proteínas es completa: de no ser así, se añaden una o dos gotas de H_2SO_4 doble normal, hasta que no se observan signos de precipitación incompleta de las proteínas. Se filtra (filtro seco, mojado con una gota del líquido que sobrenada); debe obtenerse un filtrado claro como el agua, de lo contrario se vuelve a pasar por el mismo filtro. En un matracito aforado de 25 cc., se ponen 5 cc. del filtrado, 5 cc. de reactivo de NESSLER y se completa con agua hasta la señal. En otro matracito igual se ponen 5 cc. de solución tipo de sulfato amónico (con 0,10 mgr.

(1) *Pract. Chem. Analysis of blood*, 1921.

de N), 5 cc. de reactivo de NESSLER, y se completa también con agua hasta 25 cc. Se comparan las dos soluciones al colorímetro. Véase también los métodos 6 y 8.

Cálculo: la cifra dada por el colorímetro para la solución tipo dividida por la cifra dada para la solución de sangre y multiplicada por 20 da los mgr. de urea en 100 cc. de sangre total (normalmente se obtienen 10-15-18 mgr.).

16. Determinación del ácido úrico en la orina según Folin y Shaffer (1).

Tratando la orina con una sal de amonio, el ácido úrico es precipitado en forma de urato amónico, según el principio del método de HOPKINS. El urato de amonio es recogido y el ácido úrico liberado por medio de HCl; después se dosifica fundándose en su acción reductora y decolorante sobre el permanganato. Se emplea un reactivo especial a base de acetato de urano, para precipitar los fosfatos y algunas substancias orgánicas que estorbarían la reacción y, sobre todo, retardarían los procesos de filtración. Se necesitan las siguientes soluciones:

a) Mezcla a base de acetato de urano, o reactivo de FOLIN-SHAFFER: 500 gr. de sulfato amónico; 5 gr. de acetato de urano, ácido acético cristalizable 6 cc.; agua 650 cc.

b) Solución de sulfato amónico al 10 %.

c) Solución $\frac{n}{20}$ de permanganato potásico, hecha disolviendo 1,581 gr. de sal purísima en un litro de agua (1 cc. de esta solución es reducido por 0,00375 gr. de ácido úrico).

Se procede así: en un matraz de 500 cc. se colocan 200 cc. de orina y 50 cc. de reactivo *a)*. Después de haber mezclado bien, déjese en reposo durante media hora por lo menos; se filtra por filtro seco en un recipiente bien seco. El filtrado, que representa la orina convenientemente preparada, se emplea para el análisis: se miden exactamente 125 cc. (igual a 100 cc. de orina) con una probeta y se echan en un vaso; se añaden 5 cc. de amoníaco concentrado, se cubre con un trozo de papel o con una lámina de vidrio y se deja 24 horas en reposo. Se filtra por un filtro de asbesto confeccionado con un crisol de GOOCH o también por papel de filtro, procurando recoger en el filtro todo el precipitado de urato amónico; este precipitado se lava bien con la solución *b)* sobre el filtro, para eliminar todos los cloruros, etc. Luego se pasa cuidadosamente el precipitado a un vaso ancho; cuídese de quitarlo todo del filtro, siendo el mejor procedimiento agujerear el vértice del filtro y arrastrar el precipitado con un chorro fino de agua caliente; si se ha empleado un filtro de asbesto, se echa en el vaso el asbesto junto con el precipitado de urato amónico y el agua de lavado (unos 100 cc.). Después de haber dejado enfriar el líquido, se añaden, no muy lentamente, 15 cc. de ácido sulfúrico concentrado, agitando continuamente, y mientras la mezcla está todavía caliente se valora con la solución *c)* de permanganato (puesta en una bureta) hasta que el color rosado se mantenga durante algunos instantes en *toda* la masa del líquido. El cálculo consiste en multiplicar el número de cc. gastados de solución *c)* por 0,00375, para obtener el número de gramos de ácido úrico existentes en 100 cc. de orina. Como el urato amónico es un poco soluble, hay que hacer una corrección añadiendo 0,003 a la cantidad encontrada en 100 cc. de orina. Por lo tanto, gramos de ácido úrico contenidos en 100 cc. de orina = número de cc. de solución *c)* gastados × 0,00375 ÷ 0,003.

17. Microdeterminación del ácido úrico en la orina según Folin y Macallum-Denis

FOLIN y MACALLUM (2) encontraron que el ácido úrico, reaccionando en medio alcalino con ácido fosfotúngstico, da un color azul, debido a la reducción del ácido fosfotúngstico y formación de óxidos inferiores de tungsteno, y FOLIN y DENIS (3) estudiaron luego más extensamente las condiciones de esta reacción cromática del

(1) *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. XXXII.
(2) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XI, pág. 265.
(3) *Id.*, vol. XII.

ácido úrico con ácido fosfotúngstico y ácido fosfomolíbdico. FOLIN y MACALLUM propusieron un primer método colorimétrico fundado en este principio (1), y luego FOLIN y DENIS (2) describieron un perfeccionamiento del mismo. Transcribiremos esta última modificación.

Varias substancias del tipo de los polifenoles dan la reacción azul con el reactivo de FOLIN y alteran, por lo tanto, la reacción del ácido úrico; los autores procuraron primeramente extraerlas, por medio de una mezcla de alcohol metílico y éter, de la orina acidulada y evaporada a sequedad; pero luego, en el método descrito más recientemente, recurrieron al aislamiento del ácido úrico por precipitación con el nitrato de plata amoniacal, seguido de la reacción con el ácido fosfotúngstico y de la dosificación con el colorímetro. En efecto, la evaporación a sequedad de la orina de muchos animales y de las albuminosas y azucaradas del hombre, daba un residuo en el que era difícil practicar la extracción de las substancias fenólicas perturbadoras.

Este método se lleva a cabo en menos de un cuarto de hora. Se necesita un centrifugador. El *reactivo de ácido fosfotúngstico (reactivo de* FOLIN y DENIS) se prepara así: 100 gr. de tungstato o wolframato sódico puro, 80 cc. de ácido ortofosfórico al 85 % y 750 cc. de agua destilada se hierven durante dos horas, lentamente o en un recipiente con refrigerante de reflujo. Déjase enfriar y complétese hasta 1 litro. Es necesario preparar una *solución tipo de ácido úrico*, y éste es el punto delicado. Sería muy incómodo preparar cada día o cada pocos días una solución de ácido úrico de valor conocido y, por lo tanto, es utilísimo tener una solución *estable*, que dé con el reactivo específico (con ácido fosfotúngstico) el color característico. La solución estable se obtiene mezclando ácido úrico con formaldehido: la cantidad activa de ácido úrico es solamente una parte del ácido úrico de la mezcla; pero, una vez determinada esta cantidad activa en comparación con una solución pura de ácido úrico, la mezcla puede conservarse y emplearse indefinidamente. Se prepara de la manera siguiente: se disuelve 1 gr. de ácido úrico (en un matraz aforado de 1 litro) en 200 cc. de una solución al 0,4 % de carbonato de litina; se añaden 40 cc. de solución de formaldehido al 40 %; se agita y se deja en reposo durante algunos minutos. La solución límpida se acidula con 20 cc. de ácido acético normal y se completa con agua hasta 1 litro. La solución debe permanecer transparente y al día siguiente (no antes), puede valorarse comparándola con otra solución de ácido úrico con carbonato de litina preparada con gran exactitud. En general el valor colorimétrico de la solución con formaldehido así preparada corresponde a 1 mgr. de ácido úrico por cada 5 cc. de dicha solución. En las determinaciones sucesivas es necesario tomar como término de comparación el valor colorimétrico de la solución de ácido úrico con formol, obtenido comparándola con 1 mgr. de ácido úrico puro.

He aquí cómo se hace la determinación:

Se colocan en un tubo de centrifugador de 1 a 2 cc. de orina medidos con una pipeta de OSTWALD; se añade agua destilada para obtener un volumen de unos 5 cc. y luego 6 gotas de solución al 3 % de lactato argéntico; 2 gotas de mixtura magnésica (3) y 10-20 gotas de amoníaco concentrado hasta disolución del cloruro argéntico que se ha formado primero. Centrifugar durante 2 minutos; decantado el líquido, se añaden al sedimento (que contiene todo el ácido úrico) 5-6 gotas de agua recientemente saturada con hidrógeno sulfurado y una gota de HCl concentrado. El tubo se pone luego en el baño maría hirviendo (o en un vaso con agua hirviendo) *hasta que todo el* H_2S *se haya desprendido* (compruébese con papel de acetato de Pb): éste es un punto importante porque el H_2S da también un color azul con el ácido fosfotúngstico. En vez de emplear el papel para comprobar la desaparición del H_2S, es mejor añadir una gota de solución al 0,5 % de acetato de Pb al mismo tubo (después de los 5-6 primeros minutos de permanencia al baño maría); si se forma un precipitado oscuro, se vuelve a introducir el tubo en el baño y se continúa calentando. Luego, enfriado el tubo, se añaden 2 cc. de la solución de ácido fosfotúngstico y 10 cc. de solución saturada de carbonato sódico; se lleva todo a un matracito aforado de 50 cc. y se llena con agua hasta la señal. Después se hace la valoración colorimétrica comparando este líquido con 5 cc. de la solución tipo de ácido úrico y formol diluídos también hasta 50, previa adición de cantidades del reactivo y de solución de carbonato

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XIII, pág. 303.
(2) *Id.*, vol. XIV, pág. 95.
(3) Cloruro de magnesio..... 55 gr.
» de amónico..... 70 gr.
Amoníaco concentrado (p. esp. 0,880)..... 125 cc.
disuélvase en agua, y diluyase hasta 1 litro. Véase también, pág. 799.

sódico iguales a las empleadas antes. Si la orina es albuminosa, el H_2S produce *siempre* un color negruzco; para eliminarlo (porque impide la colorimetría) es necesario añadir, después de expulsado todo el H_2S, de 2 a 10 gotas de solución al 10 % de acetato sódico.

18. Método directo de determinación del ácido úrico en la sangre según Folin (1)

Este, como el precedente método de Folin, se funda en la reacción del ácido fosfotúngstico (fosfowolfrámico) con el ácido úrico, con formación de un compuesto de color azul intenso: después de Folin, otros autores han propuesto varios métodos fundados en el mismo principio. El filtrado de sangre desalbuminada (según m. 3) se trata en caliente con una solución de ácido fosfowolfrámico preparado con especial cuidado: se hace la comparación colorimétrica con un líquido en el que se ha practicado la misma reacción mediante una solución de ácido úrico de valor conocido. Los álcalis (cianuro de sodio) hacen el color más intenso: el sulfato de litio atenúa la acción perturbadora del potasio. Este método resulta mejor con sangre humana que con sangre de otra procedencia. Se necesitan las siguientes soluciones:

a) Reactivo para el ácido úrico de Folin y Denis: en un matraz de 1 litro se mezclan 750 cc. de agua, 100 gr. de wolframato sódico puro y 80 cc. de ácido fosfórico (H_3PO_4 al 85 %). Se coloca en el cuello del matraz un embudo con un vidrio de reloj de diámetro más pequeño que obture la parte inferior del embudo. Se hace hervir lentamente durante 2 horas y se completa con agua hasta 1 litro (como el n.° 17). Cuanto más tiempo se hierve, más activo resulta el reactivo; puede hervirse hasta 24 horas.

b) Solución de sulfato de litio: 20 gr. de Li_2SO_4 en polvo se disuelven en 80 cc. de agua fría; se completa a 100. Si la solución no es clara, se filtra.

c) Solución de cianuro de sodio: se pesa cierta cantidad (entre 100 y 450 gr.) de NaCN reciente y no descompuesto por el CO_2 de la atmósfera; la dosis bien pesada se coloca en una probeta grande, se añaden 6,7 cc. de NaOH $\frac{n}{10}$ por cada gramo de cianuro y se mezcla bien hasta disolución completa. Se coloca la solución en una botella y se deja por lo menos dos semanas (si pasa más tiempo, mejor) hasta el momento del uso. La solución mejora al envejecer; es conveniente preparar solución para tres meses. Es preferible dejarla en contacto del aire (cubrir el recipiente con un vidrio de reloj). Será conveniente hacer esta prueba en blanco; mezclar 7 cc. de agua, 2 gotas de solución *b)*, 2 cc. de la solución de cianuro; añadir 1 cc. del reactivo *a)* y dejar en reposo 2 minutos; la mezcla debe permanecer incolora. Se calienta luego durante 60 segundos al baño maría hirviendo y se deja enfriar: puede aparecer una ligera coloración azul. Es necesario comprobar entonces hasta qué punto puede estorbar la determinación esta coloración del reactivo desarrollada en ausencia de ácido úrico: con este fin se toman dos vasitos y se coloca en uno 5 cc. y en el otro 2,5 cc. de la solución tipo de ácido úrico (véase más abajo), y además se agregan al segundo 2,5 cc. de agua. Se añaden a los dos vasitos las cantidades de reactivos antes indicadas y se calienta al baño maría como antes. Después se hace la comparación al colorímetro, que debe dar cifras en la relación de 1 : 2; así, si el espesor de la capa de líquido se lleva a 10 en un lado del Duboscq, en el otro (solución menos concentrada) debe resultar de 20, para que las intensidades cromáticas sean iguales.

d) Solución tipo de ácido úrico: se toma un matraz de 300 cc. de contenido y se introduce un embudo en su cuello. En el embudo se pone 1 gr. exacto de ácido úrico, que en gran parte queda adherido a las paredes, pero que se separa lavándolas con una solución de 0,45-0,50 gr. de carbonato de litio en 150 cc. de agua (esta solución se prepara aparte en un vaso bastante grande, por lo menos de 300 cc. calentando hasta 60° y agitando siempre). De este modo el ácido úrico se disuelve pronto; se agita el matraz mientras se enfría bajo el grifo y luego se vierte su contenido en otro matraz aforado de 1 litro, lavando el primer matraz con agua destilada, que se pasa al segundo, en el que se vierte más agua hasta llenarlo cerca de la mitad (hasta 400-500 cc.). Se añaden 25 cc. de formol al 40 %, se agita y se acidula con 3 cc. de ácido acético. Entonces se ven aparecer unas burbujitas de gas (CO_2); cuando la

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. LIV, pág. 153, 1922.

efervescencia casi ha terminado, se completa con agua hasta 1 litro. Se coloca la solución (procurar que esté bien mezclada) en frascos de 100-150 cc. y se tapan con tapones de corcho bueno; este líquido se conserva (a la oscuridad) durante meses. Esta es la solución tipo más concentrada (para la orina); para la sangre es necesario diluirla, en cuya forma se conserva menos tiempo. Este segundo tipo se prepara de la siguiente manera: 1 cc. de la solución antes citada, se coloca en un matraz de 250 cc. y se añaden unos 120 cc. de agua, luego 10 cc. de H_2SO_4 $^2/_3$ *n*, 1 cc. de solución de formol al 40 % y luego se acaba de llenar con agua hasta la señal (a 250 centímetros cúbicos); en el frasco que contiene la solución así preparada se pega una etiqueta con la fecha de preparación. La duración depende de varios factores, variables según las condiciones ambientes y se determina por la práctica. Preparadas estas soluciones, la determinación es muy sencilla.

Se necesita un tubo grueso marcado a 25 cc. en el que se colocan 5 cc. del filtrado de sangre y 2 cc. de agua. En otro tubo igual se ponen 5 cc. de la solución tipo *d)* y también 2 cc. de agua. Se añaden a cada tubo 2-3 gotas de la solución *b)* y, con una bureta, 2 cc. de la solución *c)*; luego se agrega a cada uno 1 cc. del reactivo *a)*; mezclar; dejar en reposo 2 minutos; luego colocarlos durante 60 segundos en el baño maría hirviendo; enfriar bajo el grifo (sin agitar) y completar con agua hasta la señal 25; determinación colorimétrica.

Es conveniente colocar en el Duboscq la solución con el tipo *d)* a 20 mm.; supongamos que de la otra solución se requiere un espesor *n*. Sabiendo que la solución tipo contiene (en los 5 cc. empleados) 0,02 mgr. de ácido úrico y que 5 cc. de filtrado aproteínico de Folin y Wu corresponden a 0,5 cc. de sangre, haremos el siguiente cálculo:

$$\frac{20}{n} \times 4 = \text{mgr. de ácido úrico en 100 cc. de sangre total.}$$

19. Determinación del ácido úrico (previo aislamiento) en la sangre según Folin (1)

El ácido úrico se precipita del filtrado de sangre desalbuminada (véase método 3) en forma de urato de plata: éste se descompone con NaCl, formándose urato sódico o, mejor, puesto que el líquido está acidulado con HCl, ácido úrico libre. Después se determina colorimétricamente el ácido úrico con el reactivo de Folin-Denis.

Además de este reactivo, ya descrito (método precedente), se necesitan las siguientes soluciones:

Solución de lactato argéntico: 100 gr. de lactato de Ag se disuelven en unos 700 cc. de agua. Además se prepara una solución al 85 % de ácido láctico, se toman 100 cc. de ella y se añaden a 100 cc. de una solución al 10 % de Na OH: se obtiene así una solución, neutralizada en parte, de ácido láctico que se añade a la solución de lactato de Ag. Se completa el total hasta 1 litro, se deja sedimentar y se utiliza solamente la solución bien clara (decantada).

Solución al 10 % *de* NaCl *en solución de* HCl $\frac{n}{20}$.

He aquí cómo se procede: se colocan en un tubo de centrifugador 5 cc. de filtrado corriente de sangre y se añaden 7 cc. de solución de lactato de Ag. Se deja sedimentar durante unos dos minutos y después se centrifuga; en el sedimento hay *todo* el ácido úrico de la sangre. Se decanta lo mejor posible el líquido y se trata el sedimento por 1 cc. de la solución de NaCl acidulada, mezclando bien con una varilla de vidrio muy delgada; se añaden 4 cc. de agua, se vuelve a mezclar y se centrifuga. Entonces en el sedimento queda principalmente Ag Cl; el líquido, no siempre bien claro, contiene el ácido úrico y se traslada a un tubo aforado a los 25 cc. En otro tubo igual se colocan 5 cc. de la solución tipo de ácido úrico. Se añaden a ambos 2 gotas de solución de sulfato de litio, 2 cc. de la solución de cianuro sódico y 1 cc. del reactivo de Folin y Denis. Se agita, se deja en reposo dos nimutos, se calienta durante 60 segundos al baño maría hirviendo, se deja enfriar, se completa hasta la señal y se hace la determinación colorimétrica como en el método directo. El cálculo es igual.

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. LIV, pág. 153, 1922.

20. Determinación del ácido úrico de la sangre según Benedict (1)

Se funda en que el ácido úrico del filtrado de sangre, tratado directamente con ácido arsenofosfowolfrámico y cianuro sódico produce coloración azul: en el fondo no es más que una aplicación de las reacciones cromáticas de FOLIN. Se necesitan:

a) Reactivo especial para el ácido úrico: 100 gr. de tungstato (wolframato) de sodio puro, se colocan en un matraz de un litro con 600 cc. de agua. Después de la disolución, se añaden 50 gr. de pentóxido de arsénico o anhídrido arsénico puro (As_2O_5), así como 25 cc. de ácido fosfórico al 85 % y 20 cc. de HCl. Se hierve durante 20 minutos, se deja enfriar y se completa hasta 1 litro.

b) Solución al 5 % de Na CN, que contiene, por litro, 2 cc. de NH_3 concentrado.

c) Solución tipo de ácido úrico: se disuelven en 200-300 cc. de agua bien caliente 9 gr. de fosfato disódico (Na_2HPO_4) y 1 gr. de fosfato monosódico (NaH_2PO_4) puros y cristalizados. Si la solución no es bien transparente, es necesario filtrarla; se completa luego con agua caliente hasta cosa de $^1/_2$ litro. En un matraz aforado de un litro se colocan 200 mgr. de ácido úrico, se añade un poco de agua, de manera que se obtenga una suspensión, y sobre ésta se vierte la solución de fosfatos aun caliente y bien clara. Se agita durante un rato hasta que se haya disuelto todo el ácido úrico. Cuando el líquido está bien frío, se añade 1 cc. *exacto* de ácido acético, se completa hasta 1 litro y se vuelve a agitar. Se añaden 5 cc. de cloroformo para impedir el desarrollo de levaduras. Así se tiene una solución, de la cual 5 cc. contienen 1 mgr. exacto de ácido úrico; la solución se conserva bien durante unos dos meses, con tal de que se tenga en un lugar fresco. Para trabajar con la sangre es conveniente una solución más diluída; para ello se colocan 10 cc. de la anterior en un matraz aforado de 500 cc., se añaden unos 250 cc. de agua destilada y 25 cc. de H Cl diluído (1 : 10) y se completa con agua hasta 500 cc. La solución primitiva resulta diluída entonces al 1 : 50, y 5 cc. de la nueva solución contienen 0,02 mgr. de ácido úrico. Esta solución diluída no se conserva más que 10-14 días y, por lo tanto, debe renovarse cada 10-14 días diluyendo la solución más concentrada.

La determinación es fácil: en un tubo de 18-20 mm. de ancho se colocan 5 cc. del filtrado de sangre y 5 cc. de agua. En otro tubo igual se colocan 5 cc. de la solución tipo *c)* diluída (0,02 mgr. de ácido úrico en 5 cc., y 5 cc. de agua. A los dos tubos se añaden con una bureta 4 cc. de la solución *b)* y 1 cc. de la solución *a)*. Se mezcla bien, invirtiendo ambos tubos una vez; entonces se sumergen *rápidamente* en el baño maría hirviendo durante 3 minutos. Si se hacen varias determinaciones, es necesario procurar que entre la inmersión en el baño maría de la primera y de la última no transcurra más de un minuto; los tres minutos se cuentan a partir de la colocación del último tubo. Luego se traspasan durante otros 3 minutos a un vaso grande con agua fría. Medición colorimétrica rápida (dentro de los 5 minutos de haber salido del agua fría). Si se hacen varias determinaciones a la vez, basta un solo tubo con solución tipo para la comparación de todas; pero como si se emplea demasiado tiempo en la determinación se corre el peligro de las modificaciones cromáticas, es conveniente no hacer más que dos o tres determinaciones a la vez.

Cálculo: si el tipo está a 20 en el DUBOSCQ y la solución que se examina está a n, sabiendo que el tipo contiene 0,02 mgr. de ácido úrico y que 5 cc. del filtrado de sangre corresponden a 0,5 cc. de sangre sin diluir, tendremos: $\frac{20}{n} \times 4 =$ número de miligramos de ácido úrico en 100 cc. de sangre total.

21. Método para la determinación total de todo el nitrógeno purínico en la orina según Salkowski-Arnstein

Con solución de nitrato de plata amoniacal se precipitan *todas* las purinas, incluyendo el ácido úrico; el precipitado es recogido, lavado con agua y calentado con magnesia para eliminar todo el amoníaco; después se determina el N (N purínico total)

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. LI y LIV, 1922.

por el KJELDAHL. Si, aparte, se determina en la misma orina (por lo menos con 100 cc.) el ácido úrico por el método de FOLIN-SHAFFER y se calcula el N correspondiente al ácido úrico, sustrayendo éste del N purínico, se obtiene la cantidad que pertenece a las bases púricas, o sea a todos los cuerpos púricos *distintos* del ácido úrico.

He aquí cómo puede procederse para obtener el precipitado integral de las purinas totales: se colocan 200 cc. exactos de orina (exenta de albúmina) en un matraz aforado de 300 cc., se añaden 50 cc. de mixtura magnésica (véase nota al pie de la pág. 795), la cual precipita los fosfatos según la conocida reacción:

$$Mg\,Cl_2 + Na_2\,HPO_4 + NH_3 = 2\,Na\,Cl + Mg\,(N\,H_4)\,PO_4.$$

Se completa con agua hasta la señal, se mezcla bien y se deja sedimentar un rato. Se filtra luego a través de un filtro seco y se recoge en un matraz de 500 cc. Se toman 200 cc. del filtrado y se les añaden 10-15 cc. de solución de $AgNO_3$ al 3 %: así precipitan todas las purinas en forma de compuestos argénticos. Se filtra; se lava bien el precipitado con agua de manera que se elimine todo el amoníaco; luego se introduce el tubo del embudo, que lleva todavía el filtro y el precipitado, en el cuello de un matraz de KJELDAHL, se rompe la punta del filtro y con un chorro fino de agua se hace pasar todo el precipitado al matraz. Procurar que el lavado del filtro sea completo y que no quede substancia adherida al cuello del matraz. Se añade un poco de magnesia y se hierve durante 20 minutos para eliminar el resto de amoníaco. Se practica después la determinación del N por el método de KJELDAHL, y se calcula el N purínico para 100 cc. de orina. Recuérdese que se ha trabajado con $^2/_3$ de la orina tomada al principio, que fué de 200 cc. y, por lo tanto, con $\frac{2 \times 200}{3}$ cc. de orina.

22. Método para determinar el NH_3 de la orina según Folin

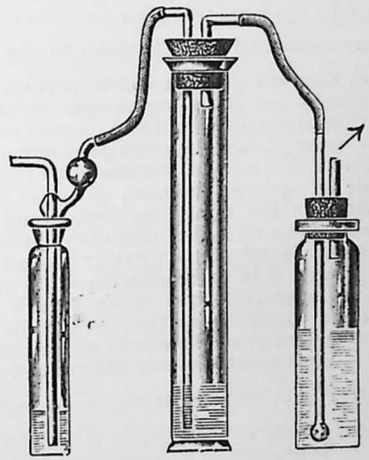


FIG. 18. Aparato de aspiración según *Folin* (para el amoníaco).

Se emplea un aparato de aireación (fig. 18) unido a una trompa aspirante de agua, fundado en el mismo principio que el empleado para la determinación de la urea por la ureasa en la orina y en la sangre (véase método n.° 13). Consta, pues, como en aquel caso, de un *recipiente lavador* (con H_2SO_4 concentrado para absorber el NH_3 del aire), una *probeta alta* en la que se colocan 25 cc. de orina y 1 gr. de carbonato sódico *anhidro* (con algunos centímetros cúbicos de toluol para detener la vegetación bacteriana e impedir que se formen nuevas cantidades de NH_3, por fermentación amoniacal de la urea durante la reacción) y un *frasco receptor* con 20 cc. de ácido sulfúrico o clorhídrico $\frac{n}{10}$ y algunas gotas de solución de alizarin-sulfonato sódico al 1 % como indicador. La probeta se coloca al baño maría a 40° y se hace pasar aire durante una hora o más para expulsar todo el NH_3 al receptor. Valoración de la acidez residual hasta viraje. Por el número de cc. de ácido neutralizados por el amoníaco desprendido, se calcula fácilmente el amoníaco presente o, mejor, el N del amoníaco. En efecto, cc. neutralizados $\times$ 0,0014 = gr. de N amoniacal en 25 cc. de orina. De aquí puede deducirse el valor para 100 ó 1000 o para la orina de 24 horas.

FOLIN y MACALLUM (1) han fundado en este mismo principio su micrométodo (con 1-5 cc. de orina): en una probeta se colocan, por ejemplo, 2 cc. de orina, además algunas gotas de una solución que contenga un 10 % de carbonato potásico y un 15 % de oxalato potásico y algunas gotas de aceite pesado (crudo) de máquinas.

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XI, pág. 523.

(para impedir la formación de espuma). Se hace la aspiración en uno de los dispositivos acostumbrados: tubo lavador, luego probeta con la orina y, finalmente, un matracito receptor con 20 cc. de agua y 2 cc. de ácido $\frac{n}{10}$. Pueden bastar solamente 10 minutos de aspiración. Luego se dosifica colorimétricamente, empleando el reactivo de NESSLER para el amoníaco y comparando con un líquido obtenido de una manera exactamente igual a partir de una solución valorada de sulfato amónico, que desarrolle precisamente 1 mgr. de NH_3.

23. Método de Folin para la determinación de la creatinina en la orina (1)

Es un método rápido, con varias causas de error, pero cómodo y, aunque no es reciente, todavía bastante usado con fines clínicos. Se funda en el hecho de que en medio alcalino la creatinina reduce el ácido pícrico $C_6H_2(NO_2)_3OH$ a ácido picrámico $C_6H_2(NO_2)_2(NH_2)OH$, que tiene un color rojo parecido al de una solución de bicromato potásico (reacción de IAFFE) (2); según el procedimiento original, se emplea precisamente como término de comparación una solución $\frac{n}{2}$ de esta sal. La reacción es también positiva con la acetona y el ácido acetoacético, aun cuando el color originado por éstos parece que es más fugaz que el producido por la creatinina (3). GREENWALD (4) confirma la causa de error debida a los cuerpos cetónicos, en cuanto existen en cantidades un poco importantes, y aconseja extraer éstas de la orina, cuando existen en ella, por medio de la extracción con éter. En tal caso se trata la orina de la siguiente manera: 25 cc. se acidulan con 1 cc. de HCl concentrado, se extrae durante dos horas con éter en un SOXHLET y luego se elimina el éter aireando la orina con cualquier dispositivo sencillo durante una hora, previa adición de algunas gotas de toluol para evitar la espuma. Liberada la orina de los residuos de éter, se procede a la determinación de la creatinina de la manera que diremos.

La glucosa, que puede reducir también el ácido pícrico (véase método 32 fundado en este principio), no estorba la determinación de la creatinina por el método de FOLIN si no excede la proporción del 5 % (GREENWALD).

Para practicar esta determinación basta tener una solución saturada de ácido pícrico y la solución de bicromato potásico $\frac{n}{2}$, que se prepara disolviendo en agua 24,55 gramos de esta sal (pura) y completando hasta 1 litro (5).

Se procede de la manera siguiente: se colocan 10 cc. exactos de orina en un matraz de 500 cc.; se añaden 15 cc. de solución saturada de ácido pícrico (conservada en la oscuridad!) y se mezcla; se añaden 5 cc. de solución de NaOH al 10 % *bien* transparente. Mezclar *inmediatamente:* dejar 5 minutos exactos en reposo a la temperatura ordinaria. Durante este tiempo se prepara el DUBOSCQ poniendo en un vasito la solución de bicromato y colocándolo a un espesor de 8 mm. Luego se añade agua al matraz que contiene la orina y el reactivo, hasta un volumen total de 500 cc.; se mezcla bien y se procede a la comparación en el colorímetro. Hacer varias lecturas cuidadosas manteniendo fijo a 8 el vasito con el bicromato. Se sabe que si la solución de bicromato está a 8, la solución de creatinina o de orina colocada en el otro vasito, después de tratada como acabamos de decir, corresponde a 8,1 cuando contiene 10 mgr. de creatinina; o sea que hay igualdad de coloración si, estando por una parte la solución de bicromato a 8, por otra está a 8,1 una solución de 10 mgr. de creatinina tratada por el método de FOLIN y completada a 500 cc. Entonces será fácil hacer el cálculo

(1) *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. XLI.

(2) Véase la química especial de ésta en *Journ. of biol. Chem.*, vol. LIX, n.° 3, 1924.

(3) HOOGENHUYZE y VERPLOEGH, *Zeitschrift. f. physiol. Chem.*, vol. LVII.

(4) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XIV, pág. 87.

(5) Los químicos llaman solución normal de $K_2Cr_2O_7$, a la que contiene $^1/_6$ de la molécula-gramo, o sea $\frac{249,2}{6} = 49,03$ gr. en un litro, porque la molécula-gramo (o número de gramos igual al peso molecular) de esta sal empleada como oxidante desarrolla 3 moléculas de O_2, equivalentes a 6 átomos de H.

para la solución desconocida (orina): si el bicromato está a 8 y la solución procedente de la orina a *n*, quiere decir que el número de mgr. de creatinina existentes en 500 cc. de esta solución guardará con 10 la misma relación que $\frac{1}{n}$ guarda con $\frac{1}{8,1}$. En efecto, si el vasito con la solución de orina llegase a 8,1 para dar una coloración igual a la del otro vaso (con bicromato) en la primera solución existirían 10 mgr. de creatinina en 500 cc.; si el primer vasito llega a más de 8,1 es señal de que hay menos de 10 mgr. de creatinina; viceversa, habrá más de 10 mgr. si la solución llega a una altura de menos de 8,1. Por lo tanto, es necesario hacer la proporción entre la recíproca de *n* y la de 8,1, y decir:

$$\text{Creatinina buscada} : 10 = \frac{1}{n} : \frac{1}{8,1};$$

de donde

$$\text{Creatinina buscada (en la orina que se analiza)} = \frac{8,1 \times 10}{n} = \frac{81}{n}.$$

Esta será la creatinina contenida en los 500 cc. de dilución de orina, en los que había 10 cc. de orina sin diluir. De la cantidad existente en estos 10 cc. de orina será fácil deducir el tanto por ciento o la cantidad en 24 horas.

Es necesario que *n* oscile entre 6 y 12; si no fuese así, repítase la determinación con orina convenientemente concentrada o diluída. Los valores extremos serían poco exactos. Adviértase que la solución tipo de bicromato va bien cuando la temperatura del laboratorio oscila alrededor de 20°; de otro modo es necesario preparar una solución tipo un poco distinta. En efecto, la temperatura modifica diversamente, y de una manera no paralela, la disociación del bicromato y del picramato. Por lo tanto, muchos prefieren hacer la comparación con una solución tipo de creatinina en vez de la de bicromato que hemos descrito (véase método 26).

24. Método de Folin-Benedict para la determinación de la creatina en la orina

Se determina la creatinina según FOLIN (véase más arriba); luego se toma otra muestra de orina, bien medida (20 cc., o menos si la orina está muy concentrada y hay mucha creatinina), se coloca en un matraz de 50 cc., se añade una cantidad igual de HCl normal y se coloca media hora al autoclave a 117°-120°; toda la creatina es transformada en creatinina por la acción del calor en presencia de ácido. Se deja enfriar, se completa hasta 50 cc.; se toman 25 cc. de esta solución (o sea la parte correspondiente a la mitad de orina tomada al comenzar), se colocan en un matraz de 500 cc. y se repite la determinación de la creatinina según FOLIN. Se obtendrá una cifra superior a la de la determinación precedente; la diferencia corresponde a la creatina urinaria. También en este caso la presencia de cuerpos cetónicos es una causa de perturbación en el sentido de que en la primera determinación se añaden a la reacción del ácido pícrico, mientras que después de la acción del calor, que los destruye, ya no influyen; la diferencia entre las dos determinaciones, que debería dar la cantidad de creatina, es, pues, alterada. Pero el método es sencillo y puede emplearse aún como investigación puramente cualitativa de la creatinuria.

25. Determinación de la creatinina en orina que contenga cuerpos cetónicos según Blau

La presencia de acetona y de ácido diacético perturba la reacción coloreada de la creatinina con el ácido pícrico, como ya se ha dicho en el n.° 23, por lo cual, tratándose de orinas patológicas con cuerpos cetónicos, se aconseja la eliminación de éstos por el método de BLAU (1), que se funda en hervir la orina con una substancia que haga descender su punto de ebullición, tal como el alcohol metílico. Se opera de la manera siguiente: en un Erlenmeyer de 300 cc. se colocan 10 cc. de orina y 5 volúmenes de alcohol metílico; si la orina es alcalina se acidula ligeramente con HCl de manera que enrojezca el papel de tornasol, pero no vuelva azul al de rojo Congo. Se hierve lentamente (bajo la vitrina, porque los va-

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XLVIII, pág. 105. 1921.

pores de alcohol metílico son tóxicos, o mejor con un refrigerante de LIEBIG) sobre una tela de asbesto de manera que *no se tarden menos* de 15 minutos en llegar a 100° y que la temperatura se mantenga a 100° durante 1-2 minutos. Se enfría con agua corriente. Se añaden 15 cc. de solución saturada de ácido pícrico y 5 cc. de solución al 10 % de NaOH; pasados 8 minutos se traslada (cuantitativamente) a un matraz aforado de 500 cc., se diluye hasta la señal y se hace la lectura colorimétrica (por ejemplo, con un tipo de comparación).

26. Determinación de la creatinina en la sangre o en la leche (micrométodo) según Folin (1)

También este método se funda en la reducción del ácido pícrico a picrámico (rojo) en líquido alcalino, por acción de la creatinina. La comparación de color se hace con una solución tipo de creatinina: esta última es más conveniente que la solución tipo de bicromato, empleada para la orina. Se trata de determinar 1-2 mgr. por 100 cc. en algunos líquidos orgánicos (sangre, leche). Se miden 10 cc. de sangre o leche, se vierten en un matracito o mejor en una probeta (con tapón de cristal) de 50 cc. Se llena hasta 50 con solución saturada de ácido pícrico purísimo (conservada en la oscuridad) y se agita; se añade aproximadamente 1 gr. de ácido pícrico cristalizado y se continúa agitando durante 5 minutos. Se deja sedimentar, se centrifuga (no es necesario si se ha partido de mayor cantidad de sangre, por ejemplo, de 20 cc. diluídos hasta 100) y se filtra; las proteínas quedan en el filtro, y se obtiene un filtrado que contiene la creatinina en solución concentrada de ácido pícrico.

Debe disponerse ahora de una solución tipo de creatinina pura en ácido pícrico: la creatinina puede obtenerse de la orina por un método de BENEDICT (2), pero también se puede hallar en el comercio. Dicha solución se prepara del siguiente modo:

Un mgr. de creatinina se disuelve en 20 cc. de solución saturada de ácido pícrico y con 1,5 cc. (medidos con una bureta) de hidrato sódico al 10 %; pasados 10 minutos, se completa a 100 cc., y esta solución, bien coloreada y *estable* sirve asimismo para la dosificación en la orina. Para tener un tipo de comparación a propósito para la dosificación en la sangre, es necesario diluir el líquido anterior con solución saturada de ácido pícrico, hasta 500 cc.; la creatinina se conserva también en este caso sin precipitar, por la gran dilución. Existe en la proporción de 0,2 mgr. por 100.

Debe compararse, pues, el color de este tipo con el del filtrado de sangre; se toman 20 cc. del tipo y 20 cc. del filtrado de sangre, se colocan en tubos distintos y se añade a ambos una cantidad *exactamente igual* de álcali: 1 cc. de solución al 10 % de hidrato sódico es la cantidad adecuada (correspondiente a 5 cc. por cada 100 de solución pícrica saturada). Si el filtrado se enturbia un poco con el álcali, es necesario refiltrarlo, antes de proceder a la colorimetría. Como la sangre fué diluída al 10 : 50 (o sea al 20 : 100) y el tipo contiene 0,2 mgr. por 100 cc., cuando notemos igualdad de coloración en los dos medios campos del aparato podremos hacer el cálculo de la manera siguiente: si el tipo está en el colorímetro a una altura de 20 mm. y la solución de sangre viene a corresponder a n, las cantidades de creatinina estarán como $\frac{1}{20} : \frac{1}{n}$; y entonces $\frac{20}{n}$ será la cantidad de creatinina, en miligramos, contenida en 100 cc. de sangre.

27. Determinación de la creatina y creatinina juntas en la sangre (y en la leche) según Folin (3)

Se prepara el filtrado de sangre tratado con ácido pícrico, igual que en el método precedente. Se parte precisamente de 10 cc. de sangre, diluídos hasta 50 con solución saturada de ácido pícrico; se recogen unos 30 cc. de filtrado desalbuminado, pero bastan 10; se colocan estos 10 cc. de filtrado (equivalentes, por lo tanto, a 2 cc.

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XVII, pág. 475.
(2) *Id.*, vol. XVIII, pág. 183.
(3) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XVII, pág. 477.

de sangre) en un tubo o en un pequeño ERLENMEYER, se cubre con un papel de estaño y se lleva al autoclave a 130° aproximadamente, durante 20 minutos; así, toda la creatina se transforma en creatinina y puede dosificarse como tal. No se abre el autoclave hasta que no ha descendido por debajo de 100°. Se deja entonces que se acabe de enfriar. Se vierte el líquido resultante en un matracito aforado de 25 cc. o en un ERLENMEYER de igual cabida; se añade solución pícrica saturada hasta la marca de 25 cc. y luego 1,25 cc. de hidrato sódico al 10 % para que se desarrolle la reacción coloreada. Se necesitan dos y hasta tres soluciones tipo de creatinina, según la riqueza supuesta en la sangre; se prepara como se ha dicho en el método precedente y contienen, respectivamente, 0,5-1 y 2 mgr. de creatinina en 100 cc. de solución saturada de ácido pícrico. A 20 cc. de cada una se añade 1 cc. de hidrato sódico al 10 %. Se observa cuál de las dos o tres soluciones tipo preparadas se asemeja más al color de la solución que se examina, y con ella se hace la comparación en el colorímetro.

Cálculo: Si el tipo está a 10 (es conveniente ponerlo a 10, mejor que a 20, porque la solución es mucho más coloreada que en el caso precedente), se multiplica 10 por 12,5 y luego por 0,5-1 ó 2 según la solución tipo que hemos usado; se divide después por la altura de la solución que se examina y se obtiene el número de mgr. de creatina + creatinina en 100 cc. de sangre.

28. Determinación de la glucosa (en la orina) por el método de Fehling y por el de Bertrand

El principio fundamental es el mismo para los dos métodos: la determinación del poder reductor respecto al hidrato cúprico. En el método clásico de FEHLING se emplean dos soluciones que se mezclan en partes iguales en el momento del uso y que están preparadas de la manera siguiente:

I. 69,28 gr. de sulfato de cobre cristalizado, disueltos en agua hasta 1 litro;

II. 346 gr. de sal de SEIGNETTE purísima (tartrato sódico potásico) se disuelven en poca cantidad de agua; se añaden 130 gr. de sosa cáustica y se completa con agua hasta 1 litro.

Las soluciones se conservan bastante (en la oscuridad); para comprobar si no se han alterado, se mezclan 10 cc. de cada una, se hierve la mezcla y se deja en reposo durante una hora: no debe haber precipitación de óxido de cobre. 20 cc. de la solución de FEHLING mixta (esto es, 10 cc. de I + 10 cc. de II) son reducidos completamente por 0,1 gr. de glucosa.

Se practica la reacción haciendo caer con una bureta la orina (sin diluir, o diluída en caso de que contenga mucha glucosa; siempre desalbuminada) en la mezcla de partes iguales de I y II, contenida en una cápsula de porcelana que se calienta con un mechero de BUNSEN, interponiendo una tela metálica. La mezcla (20 cc. = 10 de I + 10 de II) es diluída previamente en agua (cosa de 80 cc.); se calienta no demasiado bruscamente y, cuando llega a la ebullición, se empieza a dejar caer orina; se observa la formación de óxido de cobre, se hierve otra vez, se vuelve a dejar caer orina de la bureta, hirviendo siempre, y así sucesivamente hasta que *toda* la solución de cobre esté reducida: la reducción se considera total en el momento en que desaparece toda coloración azul (de hidrato cúprico) en el líquido, en el seno del cual se ha separado el óxido. Si esta separación no es clara, es necesario filtrar por papel un poco de la solución, recogerla en un tubo y mirar sobre fondo blanco si hay o no indicios de color azul (compuesto cúprico no reducido); naturalmente, el filtrado se vuelve a echar en la cápsula, lavando luego el filtro y el tubo con agua, que también se añade a la cápsula; si la reducción no es completa, se continúa agregando orina, cada vez más prudentemente para no pasar del punto preciso e hirviendo. La operación debe hacerse con rapidez porque, en contacto del aire, el óxido cuproso vuelve a oxidarse a cúprico, y entonces se obtienen valores demasiado elevados (se gasta más orina de la necesaria). Si el líquido de la cápsula se vuelve amarillento, es señal de que hay exceso de azúcar y es necesario repetir la operación con orina más diluída. Es conveniente hacer por lo menos dos determinaciones (con cantidades distintas de FEHLING).

El cálculo es sencillo; si se han empleado n cc. de orina (supongámosla sin diluir) para obtener la reducción completa (decoloración) de 20 cc. de FEHLING, como éstos corresponden a 0,1 gr. de azúcar, tendremos que en los n cc. de orina habrá 0,1 gr. de azúcar, de donde es fácil deducir el tanto por 100.

El *método* de BERTRAND se funda en el mismo principio: una solución similar a la de FEHLING es reducida por la glucosa, pero luego se dosifica con exactitud el

Cu_2O formado, disolviéndolo en solución ácida (H_2SO_4) de sulfato férrico, la cual es reducida de manera que una parte de sal férrica se vuelve ferrosa; la cantidad de sal ferrosa se determina después con una solución valorada de permanganato, según el principio conocido según el cual las sales ferrosas son oxidadas en solución ácida por el permanganato potásico y convertidas en sales férricas:

$$2\,K\,Mn\,O_4 + 10\,Fe\,SO_4 + 8H_2SO_4 = \\ = K_2SO_4 + 2\,Mn\,SO_4 + 8H_2O + 5\,Fe_2(SO_4)_3.$$

Apenas el último indicio de sal ferrosa ha desaparecido (oxidada), aparece de un modo permanente el color rojo del permanganato.

Soluciones necesarias:

a) solución de $Cu\,SO_4$ cristalizado: 40 gr. diluídos con agua hasta 1 litro;

b) sal de SEIGNETTE 200 gr.; sosa cáustica 150 gr., disueltos en agua y completados a 1 litro;

c) solución férrica: 50 gr. de sulfato férrico se disuelven en 200 cc. de H_2SO_4 puro y concentrado; completar a un litro. No debe contener indicios de sal ferrosa (se comprueba con la solución de permanganato, que no debe ser decolorada);

d) solución de permanganato: 5 gr. en 1 litro. Sin embargo, debe valorarse con una solución de oxalato amónico. Se disuelven 0,25 gr. de oxalato amónico en un vaso grande con 100 cc. de agua y 2 cc. de H_2SO_4 concentrado; se calienta a 60°-80° y con una bureta se deja caer la solución de permanganato hasta ligera coloración rosada persistente (se necesitan unos 22 cc.).

Como se sabe que una molécula de oxalato amónico corresponde a 2 Fe y también a 2 Cu, la molécula de dicha sal (peso molecular 142,1) representará el equivalente de 2 Cu, esto es $63{,}6 \times 2 = 127{,}2$ gr. de Cu (siendo 63,6 el peso atómico del Cu). Hemos encontrado experimentalmente que para combinarse con 0,25 gr. de oxalato amónico (de que hemos partido, aunque se podrían tomar más o menos) se necesitan *n* cc. de solución de permanganato; como acabamos de ver que 142,1 gr. de oxalato corresponden a 127,2 gr. de Cu, podremos averiguar a cuánto Cu corresponden los 0,25 gr. de oxalato mediante la proporción siguiente:

$$142{,}1 : 127{,}2 = 0{,}25 : x;$$

de donde

$$x = \frac{127{,}2 \times 0{,}25}{142{,}1} = 0{,}8951 \times 0{,}25 = 0{,}223775.$$

La cantidad de permanganato necesaria para saturar la cantidad empleada (0,25) de oxalato equivale a un peso de Cu, que es precisamente igual al producto de la cantidad de oxalato (0,25) por el factor 0,8951, y que en este caso es de 0,2237 gr. de Cu. Será fácil averiguar el valor exacto (equivalencia de cada cc. en Cu) de nuestra solución de permanganato, dividiendo este producto por el número de cc. de solución de permanganato empleados. En general, 1 cc. de la solución de permanganato equivaldrá aproximadamente a 0,01 gr. de Cu.

Preparadas las soluciones, he aquí cómo se procede: es necesario que la orina no contenga más de un 0,5 % de glucosa; en caso contrario se diluye (se aconseja practicar previamente el método de FEHLING para orientarse). Se colocan 20 cc. en un ERLENMEYER de 150 cc.; aunque la orina haya sido diluída, el volumen total que debe emplearse debe ser siempre de 20 cc. Se añaden 20 cc. de solución *a*) y 20 cc. de solución *b*). Hervir suavemente durante 3 minutos exactos. Retirar de la llama, dejar depositar el oxídulo unos momentos y filtrar bien caliente por aspiración sobre un filtro de asbesto en crisol de GOOCH (1). La filtración se hace de la manera siguiente: se vierte líquido claro y azul del que sobrenada sobre el sedimento de óxido,

(1) El crisol de GOOCH es un crisol de porcelana con fondo agujereado que se monta sobre un matraz de aspiración (del tipo de los que se emplean en el filtro de BERKEFELD): Se prepara el filtro de asbesto colocando en el crisol asbesto bien lavado, deshilachado en agua, y haciendo que se aplique bien por la acción aspirante (no demasiado fuerte) de una trompa: sobre la capa densa así formada se coloca un disco perforado y se hace actuar otra vez la trompa; se añade aun encima un poco de asbesto y se lava y aspira hasta que el agua pase clara y sin copos de asbesto. El crisol así preparado puede secarse a 100-120°, pero esto no es necesario para el método de BERTRAND. El asbesto puede volver a servir (lavado con ácido y luego con mucha agua.

con la menor cantidad posible de este último: entonces en el ERLENMEYER, en donde aun existe la mayor parte del precipitado, se añade agua caliente. Se lava el precipitado, se decanta el líquido sobre el filtro, procurando que arrastre tan poco óxido cuproso como sea posible, y se repite este tratamiento varias veces, con el objeto de que el lavado con agua sea lo más perfecto posible, lavando también la porción de precipitado que, a pesar de todo, haya pasado al filtro.

Cuando no quedan ya señales de azul, ni en el líquido que pasa por el filtro ni en el ERLENMEYER, se enjuaga bien el matraz al que ha pasado hasta ahora el filtrado (éste no sirve) y se vuelve a colocar el filtro. Entonces se vierten en el ERLENMEYER, que contiene la mayor parte del precipitado de Cu_2O *lavado*, 20-25 cc. de solución férrica *c)* en pequeñas porciones de 4-5 cc. cada vez, para disolver bien todo el oxídulo; hecho esto se vierte el total sobre el filtro de manera que la solución férrica disuelva también el oxídulo que se encuentra en el filtro; el total se recoge junto con el agua (fría) con que se lava bien el ERLENMEYER y el filtro. En este líquido se determina *en seguida* la sal ferrosa que se ha formado, recurriendo a la solución de permanganato, que se añade con una bureta graduada (hasta coloración rosa). Del número de cc. de solución de permanganato, bien valorado como se ha dicho, se calcula la cantidad de Cu reducido por el azúcar. De esta cifra se deduce la cantidad de azúcar empleando la tabla siguiente.

Tabla para la determinación de la glucosa según BERTRAND

Cu en mgr.	d-Glucosa en mgr.	Cu en mgr.	d-Glucosa en mgr.	Cu en mgr.	d-Glucosa en mgr.	Cu en mgr.	d-Glucosa en mgr.
20,4	10	64,6	33	105,8	56	144,5	79
22,4	11	66,5	34	107,6	57	146,1	80
24,3	12	68,3	35	109,3	58	147,7	81
26,3	13	70,1	36	111,1	59	149,3	82
28,3	14	72,0	37	112,8	60	150,9	83
30,2	15	73,8	38	114,5	61	152,5	84
32,2	16	75,7	39	116,2	62	154,0	85
34,2	17	77,5	40	117,9	63	155,6	86
36,2	18	79,3	41	119,6	64	157,2	87
38,1	19	81,1	42	121,3	65	158,8	88
40,1	20	82,9	43	123,0	66	160,4	89
42,0	21	84,7	44	124,7	67	162,0	90
43,9	22	86,4	45	126,4	68	163,6	91
45,8	23	88,2	46	128,1	69	165,2	92
47,7	24	90,0	47	129,8	70	166,7	93
49,6	25	91,8	48	131,4	71	168,3	94
51,5	26	93,6	49	133,1	72	169,9	95
53,4	27	95,4	50	134,7	73	171,5	96
55,3	28	97,1	51	136,3	74	173,1	97
57,2	29	98,9	52	137,9	75	174,6	98
59,1	30	100,6	53	139,6	76	176,2	99
60,9	31	102,3	54	141,2	77	177,8	100
62,8	32	104,1	55	142,8	78	—	—

29. Método de Benedict para la determinación de la glucosa en la orina

Es un método rápido, parecido al FEHLING, pero con él se percibe con mayor claridad el final de la reacción (decoloración completa); según MATHEWS es éste el método más exacto entre los derivados del FEHLING. Se necesita tener preparada una solución:

$CuSO_4$ cristalizado	18 gr.
Na_2CO_3 cristalizado	200 »
Citrato de sodio o de potasio	200 »
Sulfocianuro potásico	125 »
Ferrocianuro potásico, solución al 5 %	5 cc.
H_2O (destilada) hasta 1 litro.	

Basta pesar con gran precisión el sultafo de cobre. Primero se disuelve el carbonato, citrato y sulfocianuro en unos 800 cc. de agua, filtrando si es necesario. La sal de cobre se disuelve aparte en 100 cc. de agua y se añade poco a poco, agitando, a la solución de sales alcalinas. Al final se añade el ferrocianuro y se diluye hasta un litro.

El ferrocianuro impide la precipitación del óxido de cobre. La solución se conserva durante mucho tiempo.

Se procede de la manera siguiente:

En una cápsula se miden 25 cc. del reactivo; se añaden 10-20 gr. de $Na C_2 O_3 + 10 H_2 O$ (cristalizado) o la mitad de $Na_2 CO_3$ anhidro, un poco de polvo de talco para que no salte el líquido, y se calienta a llama libre hasta disolución completa del carbonato.

La orina (diluída generalmente al 1 : 10; si hay muy poco azúcar, sin diluir) se coloca en una bureta y se deja caer primero rápidamente y luego cada vez más lentamente en la solución cúprica alcalina hirviente; se continúa hirviendo; el color va debilitándose y se forma un precipitado blanco.

El punto final se determina por la decoloración, fácil de apreciar.

El cálculo se hace teniendo presente que 25 cc. del reactivo de BENEDICT son totalmente reducidos por 0,05 gr. de glucosa.

30. Método de Bang (llamado método II) para la determinación de la glucosa en la orina (1)

BANG ha sugerido un método más antiguo para la dosificación de la glucosa fundado en el siguiente principio: el oxídulo de cobre, procedente de la reducción de la sal cúprica en presencia de sulfocianuro potásico (KCNS), es mantenido en solución en forma de CuCNS o sulfocianuro cuproso. La sal cúprica residual (no reducida por la glucosa) es reducida por medio de la hidroxilamina, y el consumo de hidroxilamina da precisamente la medida de la sal cúprica no reducida: por diferencia con la sal cúprica (calculada como óxido cúprico, Cu O) empleada en totalidad, se calcula qué cantidad había sido anteriormente reducida por la glucosa y, por lo tanto, la cantidad de glucosa. BANG mismo hizo varias críticas de este primer método suyo, y lo modificó sustituyendo el sulfocianuro por cloruro potásico, como medio de solubilizar el óxido de cobre. La solubilización consiste entonces en la formación de cloruro cuproso incoloro, en presencia de *abundante* cloruro potásico. Luego no se determina el exceso de óxido de cobre con la hidroxilamina, sino que se valora directamente por yodometría el óxido cuproso procedente de la acción reductora de la glucosa. En efecto, en presencia de carbonato alcalino, el cloruro cuproso fija I según la siguiente reacción:

$$Cu Cl + I + K_2 CO_3 = Cu CO_3 + K Cl + KI.$$

Es fácil saber qué cantidad de I ha sido gastada por medio de la conocida reacción que el I en exceso da con el engrudo de almidón, que actúa de indicador.

He aquí las soluciones necesarias:

a) Solución de sal cúprica: disolver en un matraz de litro, 160 gr. de bicarbonato potásico ($KH CO_3$; 100 gr. de carbonato ($K_2 CO_3$) y 66 gr. de KCl en unos 700 cc. de agua; es conveniente comenzar por disolver el bicarbonato bien pulverizado porque es poco soluble, después de haber calentado el agua a unos 30° (la disolución de la sal la enfría), luego disolver el KCl y, por último, el carbonato, después de dejar enfriar. Entonces se añaden 100 cc. de una solución al 4,4 % de sulfato de cobre ($Cu SO_4 + 5 H_2 O$) se deja pasar la ligera efervescencia de CO_2 y se completa con agua hasta un litro. Se recomienda agitar *ligeramente;* la excesiva agitación, con la aireación consiguiente, convierte el líquido en menos apto para ser reducido por la glucosa (los valores de reducción resultan menores).

(1) *Bioch. Zeitschr.*, vol. XLIX, pág. 1, 1913.

No debe emplearse la solución antes de las 24 horas. Cuando se utiliza es necesario diluirla: 300 cc. se diluyen hasta 1000 con solución saturada de KCl. Agitar despacio y esperar algunas horas.

b) Solución de yodo para valorar el óxido cuproso disuelto en forma de cloruro cuproso. Se necesita una solución de yodo $\frac{n}{100}$, que se puede preparar por dilución con agua (hervida previamente) de una solución $\frac{n}{10}$.

Esta última se prepara con las precauciones descritas en los manuales de Química analítica o bien se adquiere, ya preparada, en un laboratorio de confianza. Sin embargo, puede prepararse directamente la solución $\frac{n}{100}$ según BANG, de esta manera: en un matraz de 100 cc. se vierte 1 cc. de solución al 2 % de yodato potásico ($K I O_3$); se añaden 2-2,5 gr. de yoduro potásico y luego, *con precisión*, 10 cc. de solución de HCl $\frac{n}{10}$; entonces queda una cantidad de I (que se disuelve en el exceso de KI) equivalente al ácido, según la ecuación:

$$KIO_3 + 5 KI + 6 H Cl = 6 K Cl + 3 H_2 O + 6 I.$$

Inmediatamente se completa con agua hasta la señal (100 cc.). Téngase en frasco de color oscuro.

c) Indicador: solución al 1 % de almidón (soluble) en solución saturada de K Cl: se conserva bien. Adviértase que en la reacción del cloruro cuproso con I en presencia de carbonato alcalino, se forma carbonato cúprico, y éste es de color azul (el color del $Cu^{''}$); puede dificultar, por lo tanto, el reconocimiento del viraje del indicador, que consiste precisamente en la aparición del color azul del compuesto del I con el almidón. Pero la sal cúprica da un azul mucho más pálido, sobre el que destaca bien el del compuesto dicho, especialmente si sólo se emplea este método para dosificar cuidadosamente *pequeñas* cantidades de azúcar, que dan reducciones pequeñas y exigen el empleo de cantidades no muy grandes de reactivo *a)*. Por lo tanto, será conveniente no utilizar el método para cantidades de azúcar superiores a 10 mgr., o sea con pequeña cantidad de orina, que siempre habrá que diluir de manera que se obtenga aproximadamente aquella cantidad. En el fondo, por lo tanto, viene a ser éste un micrométodo.

He aquí cómo se procede:

En un matraz de cristal de Jena, de fondo plano, de una capacidad de 100 cc. con cuello sin reborde, se colocan 0,1-2 cc. de orina o de la solución que se examina, teniendo en cuenta las precauciones dichas y midiéndola, naturalmente, con gran exactitud. Cuando se analizan soluciones que contienen en 2 cc. menos de 4-5 mgr. de azúcar, se puede tomar una cantidad mayor.

Se añaden 55 cc. de la solución *a)*. Luego se fija al cuello del matraz un trozo de tubo de goma fuerte, que sobresalga por lo menos 2 cm., para poder cerrarlo después con unas pinzas fuertes, que a la vez sirvan para sostener el matraz. BANG aconseja un pequeño aparato que sirve al mismo tiempo para cerrar y aguantar el matraz sin peligro, pero no es necesario. Calentar a la llama de manera que el líquido tarde 3 minutos y medio en hervir, hervir *luego* vivamente durante 3 minutos *exactos*. En el momento en que éstos han transcurrido, se cierra con la pinza el tubo de goma de la boca del matraz, de manera que se prive completamente el acceso del aire, se separa al mismo tiempo de la llama, y se lleva a enfriar bajo un chorro de agua. Así no hay ninguna oxidación por parte del aire durante la refrigeración. Luego se mantiene durante algunos minutos a la temperatura del laboratorio, para completar el enfriamiento, se abre el tubo de goma, se añade al matraz 0,5-1 cc. de la solución *c)* y se valora con la solución de yodo *b)* por medio de una bureta, hasta que el color azul oscuro sea permanente (agitar ligeramente a cada gota de solución de yodo que se añade) durante unos 5-10 segundos, no más.

Hasta 9,5 mgr. de glucosa, la cantidad de solución de yodo *b)* es proporcional a la glucosa existente en el material examinado. Para determinaciones de gran exactitud es necesario consultar las tablas de reducción de BANG, pero para los usos corrientes bastará dividir por 2,7 el número de cc. de solución $\frac{n}{100}$ de yodo empleados, para obtener los mgr. de glucosa que contiene la cantidad de orina, o de otra substancia examinada; de la cifra obtenida será fácil deducir la cantidad por ciento.

31. Micrométodo de Bang para la determinación de la glucosa de la sangre (1)

Se necesitan las mismas soluciones del método precedente, con la diferencia de que se opera con una solución $\frac{n}{200}$ de yodo, que no se conserva y que se prepara cada vez, especialmente en verano (en invierno dura algunos días), de la manera siguiente: en un matraz de 100 cc. se colocan 1-2 cc. de solución al 2 % de KIO_3, unos 2 gr. de KI, 5 cc. exactos de HCl $\frac{n}{10}$ y se completa hasta 100 con agua. Se necesita, además, una balanza muy sensible y exacta, preferentemente una *balanza de torsión*. En efecto, el principio del método se funda en absorber en trozos de papel secante cuidadosamente pesados, algunas gotas de sangre, pesar nuevamente para saber cuánta sangre se ha tomado y tratarla con solución salina ácida para coagular las proteínas, mientras que el azúcar es extraído del papel y pasa a la solución; en ésta se dosifica la glucosa como en el método anterior.

He aquí cómo se opera: se preparan unos trozos, de unos 16 × 28 mm. de papel secante grueso, blanco, bien limpio, de un peso aproximado de 0,1 gr. cada uno. El papel se trata previamente con agua caliente acidulada con ácido acético, para extraer todas las substancias reductoras y fijadoras de yodo: se encuentran también en el comercio papeles ya preparados, secados y cortados en fragmentos de dimensiones apropiadas. El trozo de papel con el cual se va a hacer la toma de sangre se pesa cuidadosamente; entonces se absorben con éste (mantenerlo con pinzas finas, no con las manos, y procurar que las pinzas no se mojen de sangre) 2-3 gotas (unos 100-130 mgr.) de sangre y se vuelve a pesar cuidadosamente: la diferencia da el peso exacto de sangre absorbida. Bang aconseja usar trozos de papel secante que llevan adherido un ganchito de alambre muy delgado, para colgarlos de la balanza y pesarlos cómodamente. La sangre no debe ocupar todo el papel. Sabido el peso de la sangre tomada, se coloca el papel con la sangre en un tubo y se procede a la coagulación de las proteínas, que deben quedar adheridas al papel, y a la extracción de la glucosa. Con este fin se trata con solución salina acidulada *hirviendo*, preparada así: solución saturada de KCl, 1360 cc.; agua, 640 cc.; HCl, al 25 %, 1,5 cc. De esta solución se colocan 6,5 cc. en un tubo con una señal de enrase a 6,5 cc.; se calientan hasta ebullición y luego se vierten de una vez en el tubo donde hay el papel con la sangre; se deja durante media hora y luego se vierte el líquido en un matraz de Jena de 50 cc. con el cuello sin reborde y con un tubo de goma como en el método precedente; se añaden a la probeta con el papel otros 6,5 cc. de solución salina acidulada hirviendo, para lavar bien el papel, y se añaden al matraz. Se deja enfriar y en el matraz se practica el análisis colocando solamente 1 cc. de la solución cúprica *a*) no diluída del método precedente (basta para 8 mgr. de glucosa). Se calienta de manera que el líquido hierva al cabo de un minuto y medio; se hierve durante otros 2 minutos *exactos;* entonces se cierra con las pinzas, se separa de la llama y se enfría bajo el grifo como en el método anterior. Se añaden 1-2 gotas de solución de almidón y se valora con solución $\frac{n}{200}$ de yodo; durante la valoración es necesario hacer pasar por el líquido del matraz una corriente suave de CO_2, mediante un tubo delgado de goma; tiene gran importancia impedir el contacto del aire, que oxidaría una pequeña cantidad del oxídulo de cobre. Se añade solución de yodo, hasta que el color azul persista durante 30-40 segundos. Para la solución de yodo se emplean microburetas especiales, graduadas en $\frac{1}{50}$ de cc.

Se sabe que a 0,04 cc. de solución $\frac{n}{200}$ de yodo corresponde 0,01 mgr. de glucosa. Es necesario advertir, sin embargo, que la solución salina y la cúprica fijan por sí solas un poco de I; por lo tanto las cifras de la valoración son un poco más elevadas, pero en una cantidad bastante constante. Bang encuentra que, de los cc. de solución $\frac{n}{200}$ de yodo empleados, es necesario sustraer primero 0,12 cc. y el resto

(1) *Bioch. Zeitschr.*, vol. XLIX, pág. 19; y especialmente, vol. LVII, pág. 300.

dividirlo por 4 para obtener el número de mgr. de azúcar contenidos en la sangre analizada. Existiría, además, una segunda corrección que, a diferencia de la primera, no depende de los reactivos, sino de la sangre (por lo tanto, no es necesaria cuando este micrométodo se emplea para soluciones puras de glucosa): la sangre contiene otras substancias fijadoras de I, y por esto hay que reducir 0,01 mgr. del valor del azúcar encontrado. Así, si la valoración produce el viraje, por ejemplo, con 4,2 cc. de solución de yodo, en el peso de sangre examinado tendremos:

$$\frac{4{,}2 - 0{,}12}{4} - 0{,}01 = 1{,}01 \text{ mgr. de glucosa.}$$

32. Método de Lewis y Benedict para la dosificación de la glucosa en la sangre (1)

El método se funda en el desarrollo de un color rojo que se obtiene tratando en caliente una solución alcalina (con carbonato sódico) de ácido pícrico con glucosa (la glucosa reduce el ácido pícrico a picrámico). El ácido pícrico sirve también para precipitar las proteínas. Se procede de la manera siguiente: se aspiran 2 cc. exactos de sangre en una pipeta de Ostwald, que contenga en la punta un poco de oxalato potásico en polvo para impedir la coagulación. Los 2 cc. se vierten en un matraz aforado de 25 cc. que contiene 5 cc. de agua destilada que hemoliza la sangre; se añaden 15 cc. de solución acuosa saturada de ácido pícrico, una o dos gotas de alcohol para evitar la espuma y se completa hasta 25 cc. con agua; agítese otra vez. Se filtra. Se vierten porciones del filtrado de 8 cc. cada una en gruesos tubos de cristal de Jena (para varias determinaciones de comprobación). A cada tubo se añade luego 2 cc. de solución saturada de ácido pícrico, 1 cc. de solución al 10 % de carbonato sódico, dos perlas de vidrio y dos gotas de aceite mineral; se calienta rápidamente a llama directa hasta precipitación. Se añaden 3 cc. de agua, se vuelve a hervir hasta redisolución del precipitado y entonces se vierte en un matracito aforado de 10 cc.; se enfría, se completa hasta la señal con agua, se agita y se filtra por algodón, recogiendo el líquido en un vasito del colorímetro (Duboscq u otro). Se compara con el color obtenido con 0,64 mgr. de glucosa, 5 cc. de solución saturada de ácido pícrico, 1 cc. de carbonato sódico al 10 %, hervidos a fuego directo hasta precipitación, y completados luego hasta 10 cc., como la solución procedente de la sangre.

Cálculo: la cantidad con que se ha hecho el análisis es 8 cc. de una solución de 2 cc. de sangre en 25 cc. de líquido total; esto es $= \frac{2 \times 8}{25} = 0{,}64$ cc. de sangre. Si, por ejemplo, la lectura colorimétrica da para la sangre que se examina una intensidad de coloración que se halla respecto a la que presenta la solución tipo (hecha con 0,64 mgr. de glucosa) en la relación de 30 : 10, significa que la glucosa de la solución de sangre que se examina está respecto a la glucosa de la solución tipo en la misma relación de 30 : 10; pero como en la solución tipo existen 0,64 mgr. de glucosa, en la derivada de la sangre habrá una cantidad x que deduciremos por la proporción $x : 0{,}64 = 30 : 10$; de donde $x = \frac{0{,}64 \times 30}{10} = 1{,}92$. La solución derivada de la sangre contendrá, por lo tanto, 1,92 mgr. de glucosa, o sea, que en 0,64 cc. de sangre (que es la cantidad con que se ha hecho el examen) existen 1,92 mgr. de glucosa. Entonces podremos calcular la glucosa por ciento, mediante la proporción $0{,}64 : 1{,}92 = 100 : x$; de la cual:

$$x = \frac{1{,}92 \times 100}{0{,}64} = 300.$$

En la sangre habrá, pues, 300 mgr. de glucosa por ciento, o sea 0,3 gr. %.

La cantidad de azúcar de la solución tipo y la cantidad de sangre que se examina se han calculado ingeniosamente de manera que, una vez practicadas las lecturas colorimétricas y obtenida la relación:

$$\frac{\text{intensidad cromática de la sol. de sangre}}{\text{intensidad cromática de la sol. tipo}}$$

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XX, pág. 61, 1915.

basta dividirla por 10 para hallar el tanto por ciento de azúcar de la sangre (1).

Se prepara una solución tipo conservable, de la manera siguiente; se disuelve en caliente 0,064 gr. de ácido picrámico en 25-50 cc. de agua alcalinizada con 0,1 gr. de carbonato sódico anhidro; se enfría y se completa hasta 1 litro exacto. El color corresponde al producido por 0,64 mgr. de azúcar tratados con ácido pícrico y carbonato sódico y completados hasta 10 cc. Si existe mucho azúcar en la sangre, puede completarse el volumen total a 25 ó 50 cc., modificando el cálculo en consecuencia.

33. Determinación de la glucosa en la sangre (micrométodo) según Folin y Wu (2)

El filtrado de sangre desalbuminada (véase método 3) se trata en caliente con solución alcalina de tartrato de cobre. Luego se disuelve y se oxida el oxídulo de cobre con ácido fosfomolíbdico, que se reduce, por lo tanto, a óxidos inferiores de molibdeno, de color azul. Se practica el mismo tratamiento con una solución de glucosa de valor conocido, y se hace la comparación colorimétrica entre ésta y la dilución de sangre.

Soluciones necesarias:

a) Solución tipo de glucosa. Se preparan 100 cc. de una solución al 1 % de glucosa, disuelta en ácido benzoico al 0,3 %; se conserva en un frasco bien cerrado y en lugar fresco. De esta solución se prepara otra más diluída, tomando 5 cc. y completando hasta 500 cc. con solución de ácido benzoico al 0,3 %; esta segunda solución contiene 1 mgr. de glucosa en 10 cc.; consérvese como la anterior, pero se altera más pronto. Se prepara una solución concentrada al doble de la precedente diluyendo 5 cc. de la primera solución al 1 % hasta 250 cc. (siempre con disolución de ácido benzoico al 0,3 %); entonces tendremos una solución con 2 mgr. de glucosa en 10 cc.

b) Solución alcalina de tartrato de cobre, 40 gr. de carbonato sódico anhidro se disuelven en 400 cc. de agua en un matraz aforado de 1 litro. Se añaden 7,5 gr. de ácido tartárico y 4,5 gr. de sulfato de cobre cristalizado (por lo tanto, con 5 moléculas de agua de cristalización). Se disuelve todo perfectamente y se completa hasta 1 litro.

c) Solución de ácido fosfomolíbdico, 35 gr. de ácido molíbdico se disuelven junto con 5 gr. de wolframato o tungstato sódico en 200 cc. de sosa cáustica al 10 % y 200 cc. de agua, en un recipiente de 1 litro; se hierve el total durante media hora, bastante fuertemente, para expulsar todo indicio de NH_3. Después de enfriada la solución, se completa hasta 350 cc., se añaden 125 cc. de ácido fosfórico siruposo (peso específico 1,71) y se diluye hasta 500 cc.

He aquí cómo se practica la determinación.

---

(1) Téngase en cuenta que la «intensidad cromática» de cada una de las soluciones es *la recíproca* de sus respectivas lecturas al colorímetro (en el cual se miden «espesores de capas»). Así, en el ejemplo anterior, lo que habíamos leído en el colorímetro sería 10 mm. para la dilución de sangre y 30 mm. para la solución tipo. Tendremos entonces:

$$\text{Glucosa en 100 cc. de sangre} = \frac{\text{int. cróm. sol. de sangre}}{\text{int. cróm. sol. tipo}} : 10 =$$

$$= \frac{\frac{1}{10}}{\frac{1}{30}} : 10 = \frac{30}{10} : 10 = 0{,}3 \text{ gr.}$$

Aunque en el fondo es lo mismo, creemos mucho más claro expresar esta fórmula del siguiente modo:

$$\text{Glucosa (en gramos) en 100 cc. de sangre} = \frac{\text{espesor de la capa de sol. tipo}}{\text{espesor de la capa de sol. de sangre}} : 10.$$

(N. del T.)

(2) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XLI, pág. 367, 1920.

Se necesitan unos tubos con una estrangulación en la parte inferior, de manera que el fondo forme como una esfera cuya capacidad sea de unos 4 cc. y esté separada del resto del tubo por un cuello de 8 mm. de largo, el cual está comprendido también en dichos 4 cc.; el tubo lleva, además, una señal de enrase a 25 cc. Estos son los tubos ideados por Folin para reducir el contacto de la mezcla azúcar + sal de cobre, con el aire y, por lo tanto, impedir en lo posible la reoxidación del oxídulo, que es una causa importante de error.

En uno de estos tubos de Folin se colocan 2 cc. del filtrado de sangre desalbuminada; en otro se colocan 2 cc. de la solución tipo *a)* que contiene 1 mgr. de glucosa en 10 cc.; en un tercer tubo se ponen 2 cc. de la dilución de *a)* que contiene 2 mgr. de glucosa en 10 cc. Así, en estos dos últimos tubos tendremos, respectivamente, 0,2 y 0,4 mgr. de glucosa. A cada uno de los tubos se añaden 2 cc. de la solución cúprica *b)*. Se mantienen todos durante 6 minutos al baño maría hirviendo y luego 3 minutos en agua fría. Agitar lo menos posible. Ahora se añaden a cada uno 2 cc. de la solución fosfomolíbdica *c)*. El oxídulo se disuelve, generalmente en 2 minutos; entonces se llena con agua hasta la señal (a 25 cc.), se tapa con un tapón bien limpio y se agita bien; se deja que se desarrolle del todo el color azul (generalmente se necesitan unos 5 minutos como mínimo y una hora como máximo) y se hace la comparación colorimétrica entre el tubo que contiene la dilución de sangre y aquel de los dos que contienen la solución tipo que presente una coloración que a simple vista se asemeje más a la primera. Las dos soluciones tipo sirven para cantidades de azúcar variables entre 70 y 400 mgr. en 100 cc. de sangre.

Cálculo: si la comparación se hace con el tipo que contiene 0,2 mgr. tendremos, si éste está a 20 en un lado del colorímetro y la solución problema a n en el otro.

$$\text{Cantidad de azúcar en 100 cc. de sangre} = \frac{20}{n} \times 100 \text{ mgr.}$$

En efecto, la concentración en azúcar de la sangre estará; respecto a la del tipo, como $\frac{1}{n}$ es a $\frac{1}{20}$ y, por lo tanto, la concentración en la sangre será igual a la del tipo multiplicada por $\frac{20}{n}$. Como que el filtrado de la sangre y la solución tipo han sido diluídos igualmente, no tendremos que hacer más que considerar la concentración del tipo establecido a 10 mgr. % transformada en 100 mgr. por 100 cc. (porque el filtrado aproteínico es sangre $\frac{1}{10}$) y multiplicarla por $\frac{20}{n}$.

Si se ha comparado con la solución azucarada de doble concentración (tubo con la solución tipo que contiene 0,4 mgr.), tendremos que introducir en el cálculo un factor doble del anterior: los miligramos de azúcar por 100 cc. de sangre serán:

$$\frac{20}{n} \times 200.$$

34. Determinación rápida (micrométodo) de la acetona y del ácido β-oxibutírico en la orina, según Lublin (1)

El principio del método es el siguiente: se recoge por destilación:

1.° La acetona preformada y la del ácido acetacético, y

2.° La acetona procedente de la acción del ácido sulfúrico y bicromato potásico (2 gr. $K_2Cr_2O_7$ + 20 gr. H_2SO_4 + 80 cc. H_2O) sobre el ácido β-oxibutírico en recipientes distintos que contienen una solución alcalina de yodo, con el cual la acetona forma yodoformo; se valora el yodo que queda libre.

Modo de operar. Se parte de mayor cantidad de orina (1 cc.) si las pruebas cualitativas hacen prever la existencia de poca acetona, o de menos (0,4) si la acetona existe en gran cantidad. En general pueden tomarse 0,5 cc. cuidadosamente medidos y se colocan en un matraz de Micro-Kjeldahl de 50 cc., con 25 cc. de agua destilada, 1 cc. de ácido acético al 10 % (para excluir los fenoles, que también fijan el yodo) y un poco de polvo de talco y se destila (sirve perfectamente el aparato para el Micro-Kjeldahl según Bang, que se encuentra en el comercio). El extremo del tubo de destilación está sumergido en un matraz receptor de 20 cc. con 10 cc. de solución $\frac{n}{100}$ de yodo y 5 cc. de NaOH al 25 % diluídos en 40 cc. de agua des-

---

(1) *Klin. Wochenschr.*, 1922, n.° 18.

tilada ; calentar no demasiado fuertemente, pero a llama directa. Pasados 10 minutos, se quita el matraz receptor con solución de yodo y se sustituye rápidamente por otro que contiene el mismo reactivo, pero con 15 cc. en vez de los 10 cc. de solución $\frac{n}{100}$ de yodo ; entonces se echa gota a gota (aproximadamente una gota por segundo) en el matraz (en el que hay la orina acidulada) 20 cc. de solución acética de bicromato (preparada con 2 gr. de bicromato, 20 cc. de H_2SO_3 a 100 vol. % y 80 cc. de agua) y se prosigue la destilación durante otros 10 minutos.

Se obtienen así dos destilados en solución alcalina de yodo : el 1.° contiene la acetona del ácido acetacético y la preformada ; el 2.° contiene la acetona procedente de la oxidación del ácido β-oxibutírico. Ambos líquidos se neutralizan en seguida con 5 cc. de H_2SO_4 al 25 % y se valoran (con *microbureta)* con una solución $\frac{n}{100}$ de tiosulfato sódico ($Na_2S_2O_3$), previa adición a cada uno de 3 gotas de engrudo de almidón al 1 % : se detiene la adición de tiosulfato cuando el líquido se decolora (viraje claro, con una sola gota). Se calcula por diferencia qué cantidad de yodo ha sido fijada en cada destilado. Para saber la cantidad total en mgr. de acetona existente en el primer destilado (preformada y del ácido acetacético) se multiplica el número de centímetros cúbicos gastados de solución de yodo por 0,0967, porque 1 cc. de solución $\frac{n}{100}$ de I corresponde a 0,0967 mgr. de acetona. Para saber la cantidad de ácido β-oxibutírico que ha pasado al otro destilado en forma de acetona, se multiplica por 0,25 el número de centímetros cúbicos gastados de solución de yodo, porque 1 cc. de solución $\frac{n}{100}$ de I corresponde a la cantidad de acetona que se desprende de 0,25 mgr. de dicho oxiácido.

Del volumen empleado de orina se deduce fácilmente el tanto por ciento o la cantidad diaria de acetona y de ácido β-oxibutírico.

No se olvide hacer cada vez un ensayo en blanco con solución de yodo diluída con agua destilada.

35. Determinación nefelométrica de pequeñas cantidades de acetona y ácido β-oxibutírico según Marriot (1)

Se utiliza la propiedad que tiene la acetona de producir, hasta en indicios, un precipitado blanco abundante en una solución de cianuro mercúrico-argéntico. La reacción es tan delicada que $^1/_{100}$ de mgr. de acetona produce una opalescencia clara en 50-100 cc. de solución de dicha sal.

Se prepara el siguiente reactivo (de Scott-Wilson) : cianuro mercúrico 10 gr., hidrato sódico 180 gr., agua destilada 1200 cc. Agitar bien en un matraz y añadir luego lentamente, 400 cc. de solución al 0,7268 por 100 de nitrato de plata.

Inmediatamente antes del uso se filtra el reactivo (en crisol de Gooch) por una capa de asbesto, cuyos poros han sido previamente ocluídos en parte filtrando a su través una suspensión de talco en agua. Se deben tomar por lo menos 30 cc. de reactivo para cada mgr. de acetona que se supone existe en el líquido que se examina. En caso necesario, y si el precipitado es demasiado denso, se puede añadir un poco de reactivo después de la precipitación de la acetona.

La solución de acetona, que no debe contener NH_3, aldehidos o H_2S, es destilada y recogida en un exceso de reactivo de Scott-Wilson : procurar que el tubo por donde cae el destilado se sumerja bien en el líquido del matraz receptor. Se prosigue la destilación por lo menos durante 15 minutos. Después de dejarlo en reposo durante media hora, se traslada el líquido obtenido a una probeta graduada, en la cual se diluye de manera que se obtenga un enturbiamiento bien evidente, es decir, comparable al obtenido con una cantidad conocida de acetona : un enturbiamiento adecuado es el que producen 0,05 mgr. de acetona en 100 cc. de líquido, *destilados* y *recogidos* en 75-100 cc. del reactivo. Nótese que, para trabajar con exactitud, la solución tipo debe ser siempre *destilada* y *recogida* en el reactivo ; nunca hay que añadirla directamente a éste (en cuyo caso parece que el enturbiamiento es menor).

En un trabajo posterior Marriott expone (2) la aplicación del método al análisis de pequeñas cantidades de sangre.

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XVI, pág. 289, 1923.
(2) *Id.*, vol. XVI, pág. 295 y 297.

10 cc. de sangre, extraídos de una vena superficial con una jeringa graduada, se vierten en 40 cc. de solución al 0,5 % de oxalato de K. Un matraz de Kjeldahl de cuello largo, y de unos 800 cc. de cabida, está cerrado por un tapón provisto de dos agujeros, por uno de los cuales entra un embudo de llave y por el otro sale un tubo conectado con un refrigerante, cuyo extremo inferior está sumergido en agua contenida en el matraz que sirve de recipiente. El matraz de Kjeldahl contiene 100 cc. de agua con 1 cc. de ácido acético cristalizado ; se hace hervir y, mientras hierve, se vierte lentamente por el embudo de llave la sangre recogida y diluída como se ha dicho antes. Se continúa hirviendo y destilando durante media hora a partir del momento en que se ha acabado de añadir la sangre. Después se redestila el destilado, previa adición de un poco de ácido sulfúrico diluído (que retiene el NH_3, cuya presencia debe evitarse) y, finalmente, se hace una tercera destilación con adición de 10 cc. de agua oxigenada al 3 % y un ligero exceso de álcali (5 cc. de hidrato sódico al 10 %) para destruir o retener el H_2S, aldehidos y ácidos volátiles. Este último destilado es recogido en un pequeño Erlenmeyer que contiene reactivo de Scott-Wilson : vigílese que el extremo del tubo de condensación se introduzca en el reactivo ; basta destilar 10 minutos para obtener toda la acetona. El precipitado puede recogerse sobre un filtro de asbesto en un crisol de Gooch, parcialmente obstruídos con talco, y en este compuesto (cianuro mercúrico-acetónico) se puede dosificar la acetona, siguiendo el método de Scott-Wilson (1). Pero también se puede hacer, lo que es mucho más sencillo y rápido, la determinación nefelométrica, comparando el enturbiamiento debido a la formación del compuesto metálico-acetónico insoluble con el producido por una solución tipo. La determinación nefelométrica puede hacerse en el colorímetro de Duboscq, con tal de que se enfoque bien el aparato, buscando el punto en el cual la luz es perfectamente igual en ambos campos si previamente se ha colocado en ambos vasitos el mismo líquido (el tipo) ; empléese la luz procedente de una abertura practicada en las cortinas verde-oscuras de una habitación no iluminada por otro sitio, y evítese toda formación de espuma en el líquido, porque la espuma extrae muchas partículas en suspensión por fenómenos de adsorción; por lo tanto, no deben agitarse los tubos, sino que se hacen rodar y se inclinan suavemente, para obtener una repartición uniforme del precipitado.

El resultado corresponde a la acetona preformada + la del ácido acetacético.

Se puede determinar, además, el ácido β-oxibutírico, fundándose en el principio de su transformación en acetona por medio del bicromato de K (2) : el residuo de la destilación última en el matraz de Kjeldahl aun caliente, se trata con 8 cc. de solución al 10 % de carbonato sódico, hervido un poco, y entonces se forma un precipitado coposo y se filtra por un papel seco en un embudo de Buchner (embudo de porcelana finamente perforado) y se lava sobre el filtro con agua caliente. Al filtrado transparente se añaden 15 cc. de acetato básico de plomo y 10 cc. de NH_3 concentrado. Se obtiene aún un precipitado, que se deja sedimentar, y se filtra por un filtro con pliegues ; el filtrado, claro como el agua, es hervido luego para expulsar la mayor parte de NH_3. Entonces se añade, después de enfriamiento, ácido sulfúrio diluído, para precipitar el exceso de plomo ; se filtra para separar el sulfato de plomo, se vuelve a añadir ácido sulfúrico (unos 6 cc. de ácido al 50 % por cada 100 cc. de líquido) y se destila en el aparato acostumbrado. Mientras se destila se hace caer lentamente en el destilador una solución acuosa de bricromato de K, de manera que el líquido que hierve tenga siempre una coloración amarillenta (el volumen no debe pasar de 400-500 cc.) ; frecuentemente bastan 0,5 gr. de bicromato. El destilado, recogido en agua, es vuelto a destilar con H_2O_2 e hidrato sódico, y el destilado final, que contiene la acetona formada a expensas del ácido β-oxibutírico por la acción del bicromato, puede servir para la determinación nefelométrica, si se recoge en un exceso de reactivo de Scott-Wilson. Adviértase que la oxidación del oxiácido con el bicromato da solamente el 90 % de la acetona teóricamente capaz de formarse, por lo cual las cifras de oxiácido obtenidas por este método deben ser aumentadas en un 10 %. Claro está que, en vez de operar nefelométricamente, también puede determinarse la acetona derivada del oxiácido, analizando el precipitado mercuriacetónico, según el método ya indicado y descrito en la citada revista.

(1) Descrito en el volumen indicado del *Journ. of biol. Chem.*, en la pág. 284 y 285 (modificaciones del mismo Marriott).
(2) Shaffer, *Journ. of biol. Chem.*, vol. V, pág. 211.

36. Determinación nefelométrica de pequeñas cantidades de cuerpos cetónicos en la orina, según Folin y Denis (1)

Los fundamentos nefelométricos son los fijados por Marriott, incluso por lo que atañe al empleo del colorímetro de Duboscq (véase anteriormente).

Se emplean tubos de aspiración por corriente de aire, del modelo introducido por Folin, tal como se hace, por ejemplo, en el método de la determinación de la urea por la ureasa (2).

Acetona libre. Se coloca en un tubo 1 cc. de solución al 10 % de ácido sulfúrico y se añade una cantidad de orina suficiente para contener unos 0,5 mgr. de acetona; por lo tanto, de 0,5 a 5 cc. de orina. El ácido tiene por objeto retener el NH_3 capaz de perturbar la reacción de la acetona. Se coloca el tubo al baño maría a 40-45°, y se aspira la acetona con una corriente moderada de aire, llevándola a un segundo tubo que contiene 10 cc. de solución al 2 % de bisulfito sódico, preparada en el acto: el bisulfito retiene la acetona de la misma manera que los ácidos fijan el amoníaco. En 10-15 minutos ha sido aspirada toda la acetona. Entonces se pasa la solución de bisulfito a un matraz aforado de 100 cc., se diluye hasta 50-60 cc., se añaden 15 cc. de reactivo de Scott-Wilson, se completa con agua hasta 100 y se mezcla (sin formar espuma).

El reactivo se prepara así: 10 gr. de cianuro mercúrico disuelto en 600 cc. de agua se mezclan con una solución de 180 gr. de hidrato sódico en 600 cc. de agua. Enfriar; añadir lentamente y agitando una solución de 2,9 gr. de nitrato de Ag en 400 cc. de agua. Dejar en reposo 3-4 días y decantar.

Para la comparación es necesario colocar 0,5 mgr. de acetona en presencia de 10 cc. de solución de bisulfito (que modifica el enturbiamiento y también ha de estar en el tipo) diluir con agua hasta 50-60 cc., añadir 15 cc. de reactivo y completar también hasta 100 cc. como en el líquido que se examina. Sin embargo, ¿cómo podremos tener acetona no polimerizada, que reaccione bien con el reactivo, como la obtenida por destilación reciente? Los autores hallaron que la acetona se conserva durante algunas semanas si se diluye (hasta tener 0,5 mgr. de acetona en 10 cc.) con ácido sulfúrico $\frac{n}{4}$. Para obtener un tipo exacto, disuelven 2 cc. de acetona purísima Kahlbaum en 500 cc. de agua y destilan; se recogen 150 cc. del destilado en un matraz grande que contenga ya 100 cc. de H_2SO_4 $\frac{n}{4}$. Luego dosifican la acetona por el método yodométrico clásico y diluyen la solución, siempre con H_2SO_4 $\frac{n}{4}$ de manera que 10 cc. contengan 0,5 mgr. de acetona.

Acido acetacético. — Las orinas que dan una fuerte reacción con el percloruro de hierro, contienen más de 0,5 mgr. de ácido acetacético por cc. y deben ser diluídas de manera que en la determinación se parta de una fracción de cc. de orina que contenga unos 0,3-0,7 mgr. de acetona total. Se coloca esta cantidad de orina en un tubo con 1 cc. de ácido sulfúrico al 10 % (para retener el NH_3) y se introduce en un baño maría hirviendo, después de unirlo con otro tubo que contenga 10 cc. de solución al 2 % de bisulfito (véase antes); aspiración *lentísima*, especialmente durante los primeros 10 minutos, luego un poco más rápida; en total ha de durar unos 15 minutos. Entonces se pasa la solución de acetona en bisulfito a un matraz aforado de 100 cc., y se procede como antes: se obtiene así la acetona total (la preformada y la del ácido acetacético). Restando de esta cifra global la cantidad encontrada en la determinación de la acetona libre (véase anteriormente) se obtiene la acetona del ácido acetacético, y como 1 mgr. de acetona deriva de 1,8 de ácido, la cantidad de acetona, multiplicada por 1,8 da la cantidad de este ácido.

Acido β-oxibutírico. — Los autores citados encontraron que si se trabaja con cantidades mínimas, la transformación de este ácido en acetona por medio del bicromato (véase método precedente) es total; encontraron también que no es necesaria la adición *gradual* del bicromato, como cree Marriott. Con las orinas que contienen glucosa, se procede de la manera siguiente: como en estas orinas diabéticas existen

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XVIII, pág. 263.
(2) Véase también *Journ. of biol. Chem.*, vol XI, pág. 499; y los métodos citados en el n.° 13 y en el n.° 22, de esta III Parte.

varios mgr. de oxiácido por cc. y es conveniente no trabajar con más de 2 mgr., se diluye la orina 10-50 veces. Las precedentes pruebas para la acetona, etc., sirven de orientación acerca de la probable cantidad de oxiácido. La orina, diluída en la proporción conveniente, se coloca en un matraz de Kjeldahl de 500 cc., se añaden unos 200 cc. de agua y 5 cc. de ácido sulfúrico al 10 %. Se hierve durante 10 minutos y así se separa la acetona preformada y la que se forma del ácido acetacético. Luego se añaden al matraz 25 cc. de una solución que contiene 2 % de bicromato potásico y 35 % de ácido sulfúrico. El matraz es inmediatamente unido con el refrigerante y se destila lentamente durante 40 minutos-1 hora; es conveniente, apenas hierve el líquido, bajar la llama y destilar sin efecto visible (la acetona es muy volátil) durante 30 minutos, luego aumentar otra vez la llama y destilar, con ebullición, unos 15 minutos. Deben obtenerse solamente 80-125 cc. de líquido en el tiempo dicho; como recipiente se emplea otro matraz de Kjeldahl de 500 cc. con 75-100 cc. de agua fría, dentro de la cual debe quedar bien sumergido el extremo inferior del tubo del refrigerante. Se añaden al destilado 2 gr. de peróxido de sodio y se repite la destilación; en 10 minutos deben reunirse unos 80 cc. de destilado, que se recoge en una probeta graduada de 100 cc., que contiene previamente 10 cc. de agua. Se completa el nuevo destilado hasta 100 cc., se miden 25 a 50 cc. del líquido así obtenido, y se vierten en un matraz aforado de 100 cc., que contiene 25 cc. de agua. Se añaden 15 cc. del reactivo de Scott-Wilson, se completa con agua hasta la señal y se mezcla bien.

A otro matraz igual, con 0,5 mgr. de acetona y 50 cc. de agua, se añaden también 15 cc. de reactivo y agua hasta un volumen total de 100 cc.

Pasados 10 minutos se hace la comparación nefelométrica entre las dos soluciones. Un mgr. de acetona corresponde a 1,78 mgr. de ácido β-oxibutírico.

El peróxido de sodio destruye en este procedimiento todas las substancias derivadas de la glucosa o del ácido glucurónico que podrían formarse en el proceso de oxidación con el ácido crómico, y falsear la determinación. Es, por lo tanto, inútil la fastidiosa operación de defecar con acetato de plomo.

37. Método de Kumagawa-Suto para la determinación de las substancias grasas (1)

Transcribiremos este procedimiento porque forma época en la historia de la química de las grasas en el organismo y ha servido de base a otros numerosos métodos, descritos después. No corresponde a la índole de este libro hacer una exposición un poco extensa de la técnica referente a este capítulo de la Bioquímica; pero quien ha aprendido a manejar un extractor de Soxhlet, modificado por los mismos Kumagawa-Suto, ha comprendido bien el método de Kumagawa-Suto (que prescinde de extractor) y leído su extenso trabajo, se encuentra en condiciones de emprender otras investigaciones en este campo.

El extractor de Soxhlet consiste en:

1.° Un recipiente donde hierve alcohol o éter (líquido de extracción);

2.° Otro recipiente superpuesto donde se coloca la materia orgánica, desecada a 100° y pulverizada, dentro de una envoltura especial (saquitos o « dedales » de papel de filtro, que pueden adquirirse en el comercio o confeccionarse en el laboratorio); este recipiente va provisto de un sifón, gracias al cual, cuando su contenido llega a cierto nivel, es descargado inmediatamente al recipiente inferior, donde hierve;

3.° Un refrigerante condensador colocado encima del anterior, por el cual pasan los vapores del líquido de extracción, se condensan y caen sobre el material que se extrae. Así, el alcohol o éter, bien caliente, pasan varias veces por la substancia, se reintegran por el sifón al matraz inferior, vuelven a evaporarse, se condensan de nuevo, repiten la extracción, y así sucesivamente.

Kumagawa y Suto comprobaron extensamente la eficacia de estas extracciones con alcohol o éter y emplearon para ello un extractor semejante al Soxhlet, pero con un dispositivo combinado de tal manera que el líquido de extracción se pone en contacto con el material a temperatura mucho más alta, mucho más cercano al punto de ebullición (llamado *extractor en caliente*). El matraz inferior se calienta con un mechero, interponiendo una tela metálica con asbesto, si se extrae con alcohol, y al baño maría si se trabaja con éter o cloroformo. Pero, según estos autores, la extrac-

(1) *Bioch. Zeitschr.*, vol. VIII, pág. 212.

ción deja siempre un poco de grasa y, por otra parte, extrae de los tejidos otras substancias no grasas; los resultados de la extracción alcohólica, etérea, etc., son muy distintos en manos de diversos operadores y representan un medio de determinación de las grasas y lipoides que puede estar sujeto a errores hasta del 20-25 %. Fundándose en estas consideraciones, KUMAGAWA y SUTO introdujeron un método, que consiste en determinar las grasas en forma de ácidos grasos superiores (insolubles en agua). Este es el procedimiento más exacto, porque de todos los cuerpos de esta categoría pone en evidencia precisamente el único componente verdaderamente común, los *ácidos grasos de cadena larga*, y dosifica éstos. Sólo quedan las substancias llamadas *insaponificables* (colesterina y otros cuerpos) en el complejo de los ácidos grasos superiores y deben ser luego determinadas aparte, para sustraerlas del total; por lo demás, son únicamente los ácidos característicos los que son íntegramente dosificados por el método citado. El método es cómodo porque no necesita ningún aparato ni reactivo especial. Se procede de la manera siguiente:

Según la riqueza en grasas, se toman 2-5 gramos de órgano pulverizado (órgano desecado a 100° y pulverizado) y se colocan en un vaso de precipitados con 25 cc. de sosa cáustica 5-norm. (= 20 %). Se saponifica toda la grasa calentando durante 2 horas al baño maría hirviendo; es conveniente cubrir con una campana invertida durante la ebullición el baño maría y el recipiente con la substancia; de este modo se tiene una temperatura de 100° más constante y segura; es conveniente agitar un par de veces, durante las 2 horas, el contenido del vaso con una varilla de vidrio. Luego se lleva el material (durante este tiempo el polvo de órgano se ha disuelto casi del todo) aun caliente a un embudo separador que pueda cerrarse bien, de una capacidad de unos 250 cc.; se lava un par de veces el recipiente con poca agua (4-5 cc.) caliente, que se pasa luego al embudo. Se hiperneutraliza con 30 cc. de HCl al 30 %; con este fin es conveniente dejar enfriar primero el contenido del embudo hasta 40°-50°, luego añadir 20 cc. del ácido, agitar fuerte, acabar de enfriar con agua corriente bajo la espita, añadir otros 10 cc. de ácido y volver a agitar. Se obtiene una precipitación abundante y, cuando todo está bien frío, se añaden 70-100 cc. de éter y se sacude el embudo (bien cerrado!). Se obtiene así, dejando reposar, una capa etérea que sobrenada (con los ácidos grasos), una pequeña capa de precipitado en medio y una capa inferior, acuosa y ácida. Esta última se hace caer en un recipiente y *se guarda aparte*. La capa etérea se vierte cuidadosamente en un vaso. En el embudo quedan el precipitado y los residuos de los líquidos; se lava dos veces con 5-10 cc. de éter cada vez, se añaden luego 5 cc. de sosa cáustica normal y se acaba de disolver el precipitado agitando; se añaden otros 30-50 cc. de éter y se vuelve a agitar; luego se vuelve a echar en el embudo la solución acuosa fuertemente ácida, colocada aparte en un recipiente después de la primera agitación: de este modo la reacción del líquido del embudo vuelve a ser ácida; se agita fuertemente: todos los ácidos grasos residuales pasan al éter y no quedan ni siquiera indicios de ellos en el ligero precipitado ni en la nueva capa acuosa que se forma. La capa etérea se reúne en el vaso junto con la anteriormente separada, se evapora el éter, se vuelve a disolver en éter, se filtra por un filtro de asbesto (K. y S. indican un modelo especial, con asbesto encima y algodón desgrasado debajo) y se evapora (los autores describen un dispositivo especial). El extracto etéreo está coloreado; contiene pigmento, ácido láctico y otras impurezas, además de los ácidos grasos superiores. Se deseca bien a 50° durante algunas horas, se redisuelve en éter de petróleo (que es conveniente verter en cantidad de 20-30 cc. sobre el extracto etéreo aun caliente, sacado del secador), se deja en reposo media o una hora, luego se filtra el éter de petróleo por filtro de asbesto, y el filtrado (incoloro) se evapora y se deseca a 50° hasta peso constante. Se puede determinar por pesada la cantidad de ácidos grasos (más las substancias llamadas insaponificables).

La separación cuantitativa de las substancias insaponificables es necesaria, si queremos conocer exclusivamente la cantidad de ácidos grasos superiores: estas substancias están compuestas principalmente, pero no de una manera exclusiva, por la colesterina. Para ello, la masa de ácidos grasos obtenida por el método descrito se disuelve en 50-70 cc. de éter de petróleo, se pasa a un embudo separador y se añade una cantidad tal de solución alcohólica $\frac{n}{5}$ de potasa cáustica que represente el 30-40 % del éter de petróleo; si, por ejemplo, habían 50 cc. de éter de petróleo, se añaden unos 17 cc. de solución de KOH $\frac{n}{5}$ en alcohol absoluto. Se agita bien varias veces; se obtiene una solución transparente y uniforme. Si ahora se añade precisamente una cantidad de agua igual a la cantidad de solución alcohólica de potasa que se ha empleado, se agita y se sacude, el agua se mezcla con el alcohol (que queda diluído al 50 %) y luego se separan dos capas: una superior, de éter de petróleo, con la colesterina y las substancias insaponificables, y otra inferior, hidroalcohólica, con los jabones de los ácidos grasos. Esta capa inferior se separa y se agita nuevamente con 30-40 cc. de éter de petróleo. Los extractos petroletéreos se reúnen y se evaporan; para eliminar el residuo los ácidos grasos residuales, se disuelve en un poco de alcohol con 0,5-1 cc. de solución alcohólica de NaOH $\frac{n}{10}$, se evapora nuevamente al baño maría y se deseca durante 15-30 minutos a 100°. Se extrae otra vez en caliente con éter de petróleo, se filtra por filtro de asbesto, se evapora y se deseca a 100° hasta peso constante. El peso de este último residuo nos da la cantidad de substancias grasas insaponificables.

38. Dosificación de la colesterina

Hemos visto cómo con el método de KUMAGAWA-SUTO se conseguía extraer completamente los ácidos grasos junto con las substancias insaponificables, de las cuales la principal es la colesterina. También la extracción etérea simple, aunque prolongada y repetida, da una mezcla de verdaderas grasas y de colesterina. Para dosificar la colesterina es necesario aislar el cuerpo en cuestión de estas mezclas, y luego determinarla por pesada. Si el aislamiento se hace de una mezcla de grasas extraídas directamente, se obtiene y dosifica solamente la colesterina libre; si el aislamiento se hace con material previamente saponificado, entonces se obtiene toda la colesterina, hasta la combinada con ácidos grasos (ésteres colesterínicos). Es clásico el método de WINDAUS, que consiste en

1.° Una triple extracción prolongada con éter (en el SOXHILET).

2.° En aislar la colesterina del extracto etéreo (evaporado y redisuelto en alcohol) por medio de la digitonina, que forma con la colesterina, en disolución en alcohol absoluto, un compuesto de proporciones bien definidas, compuesto que al rebajar el alcohol (por medio de agua) se separa y puede pesarse (1). Pero es, naturalmente, preferible saponificar todas las grasas y extraerlas primero con el método de KUMAGAWA-SUTO, aislando y dosificando después la colesterina por medio de la digitonina, según WINDAUS.

GRIGAUT (2) ha propuesto un método de extracción que puede emplearse para la determinación gravimétrica de la colesterina y también su dosificación colorimétrica: a este autor corresponde el mérito de haber demostrado la insuficiencia de la extracción etérea sin saponificación previa, especialmente si se trabaja con suero de la sangre.

SERONO (3) propone el siguiente método, que tiene en cuenta estos distintos elementos y dosifica la colesterina total en el suero de la sangre: en un matraz de 250 cc. se vierten 10 cc. de suero y se añaden, lentamente y agitando, 100 cc. de una mezcla a partes iguales de alcohol y éter *anhidros*. Después de 24 horas de reposo se filtra, y el precipitado se lava con otros 100 cc. de alcohol-éter. El filtrado mezclado con los líquidos de loción se utiliza para los análisis subsiguientes: se evapora al baño maría y se añaden al residuo 100 cc. de alcohol absoluto y 1 gr. de sodio metálico. Durante tres horas se mantiene al baño-maría (refrigerante de reflujo), y, finalmente, se evapora el alcohol. Así se obtienen jabones, que se mantienen a 100° durante 24 horas y, finalmente, se tratan con éter para extraer la colesterina. Son necesarias repetidas extracciones de la substancia con éter. El extracto etéreo se evapora al baño maría, mejor lentamente, dejando cristalizar la colesterina en agujas sedosas (ésta, disuelta en alcohol absoluto caliente y evaporando después, cristaliza en las laminillas tan características).

Pero todos estos métodos a base de aislamiento, aunque exactos, son lentos, costosos y poco prácticos. Para la clínica, y aun para ciertas investigaciones experimentales acerca de la colesterina en la sangre, ha sido un gran progreso el empleo de los métodos colorimétricos debidos a GRIGAUT y a AUTHENRIETH y FUNK (4).

Estos métodos se fundan en la aparición del color verde con el anhídrido acético y el ácido sulfúrico, según la *reacción de* LIEBERMANN. AUTHENRIETH y FUNK pro-

(1) *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, vol. LXV.
(2) *Compt. rend. Soc. de Biol.*, 1910 y siguientes.
(3) *Rassegna di Clin. e Terap.*, 1913, n.° 3; 1914, n.° 1.
(4) *Münch. med. Woch.*, 1913, n.° 23.

ponen también un dispositivo colorimétrico especial. Describiremos aquí el método modificado por LICHTENTHAELER, descrito por MANDEL y STEUDEL (1).

Se practica primero la saponificación con álcalis y se extrae luego la colesterina con cloroformo; con el extracto clorofórmico se practica la reacción de LIEBERMANN, que se compara colorimétricamente con la producida por una solución tipo de colesterina.

Procedimiento. — Se colocan 20 cc. de una solución al 25 % de KOH en un pequeño ERLENMEYER y se añaden 2 cc. de sangre. Se calienta durante 5 horas al baño maría hirviendo; se deja enfriar. Se vierte el total en un embudo de separación, extrayendo tres veces con 25 cc. (cada vez) de cloroformo. Se reúnen todos los extractos clorofórmicos y se lavan 3-4 veces con agua. Luego se pasa este líquido clorofórmico a un matraz aforado de 100 cc., se completa con cloroformo hasta la señal y se mezcla bien. Con una pipeta bien seca se miden exactamente 10 cc., se vierten en un matracito bien seco y se añaden 4 cc. de *anhídrido acético* (no de ácido acético) y 0,2 cc. de ácido sulfúrico concentrado. Se deja en un *lugar oscuro* durante 16 *minutos* para que se desarrolle bien la reacción (AUTHENRIETH y FUNK aconsejan en su trabajo original mantener la mezcla a 32°). Entretanto, se debe haber tratado igualmente una solución que sirva de tipo de comparación: 100 mgr. de colesterina en 100 cc. de cloroformo representan una solución madre, de la cual se separa *otra más diluída* tomando 4 cc. y diluyéndolos con cloroformo hasta 100 cc. Este líquido tipo contiene, por lo tanto, 0,04 mgr. en cada cc. y de él se toman 10 cc. y se tratan de una manera exactamente igual que los 10 cc. del extracto clorofórmico de sangre. El cálculo es el siguiente: si en el DUBOSCQ el tipo (= 0,4 mgr. de colesterina) está a 20 mm. y la solución de sangre (= $^1/_{10}$ del extracto de 2 cc. de sangre = extracto de 0,2 cc. de sangre) está a n, tendremos: $\frac{20}{n} \times 200$ = mgr. de colesterina en 100 cc. de sangre. Procúrese que los vasitos colorimétricos no estén soldados con bálsamo, que el cloroformo disolvería.

Citemos también la determinación de la colesterina en la sangre por el método rápido de LEIBOFF (2).

Se necesita un tubo especial de extracción, con una estrangulación en un punto determinado; por debajo de ella debe quedar una capacidad de más de 5 cc. Se colocan en el tubo 5 cc. de cloroformo (hasta una señal que llena el tubo) y se coloca un disco de papel de filtro sobre la estrangulación, de manera que no toque a la superficie del cloroformo; la estrangulación sirve precisamente para sostener el papel. Se colocan 0,25 cc. de sangre oxalatada sobre el papel de filtro, que la absorbe toda. El tubo de extracción se une entonces a un condensador de reflujo, se sumerge en un vaso con agua hirviendo (sobre un calentador eléctrico) y se extrae durante media hora. Entonces se separa el tubo del condensador, se quita el papel, se deja enfriar el líquido (que contiene la colesterina extraída) y se completa nuevamente con más cloroformo hasta la señal de 5 cc.

En otro tubo igual se ponen 5 cc. de solución tipo de colesterina, preparada disolviendo 40 mgr. de colesterina pura y seca en 500 cc. de cloroformo puro: este tubo contiene, por lo tanto, 0,4 mgr. de colesterina.

A ambos tubos se añaden 2 cc. de anhídrido acético puro y seco y 0,1 cc. de H_2SO_4 concentrado. Ciérrense con tapones de corcho, e inviértanse dos o tres veces. Dejarlos medio minuto en un vaso con agua fría y luego 10 minutos a la oscuridad. Lectura colorimétrica. En el DUBOSCQ se coloca el tipo a 10 ó 15, según la intensidad del color de la solución de sangre:

$$\frac{\text{lectura del tipo}}{\text{lectura de la sol. de sangre}} \times 160 = \text{mgr.}$$

de colesterina en 100 cc. de sangre.

39. Determinación de algunos componentes minerales en la orina. Dosificación de los cloruros urinarios

Dada la gran eliminación de algunas sales minerales por el intestino, su sola determinación en la orina tiene un valor clínico relativo; así, el balance del Ca no puede hacerse más que midiendo la eliminación total, urinaria y fecal. Nos limitaremos a describir algunos pocos métodos clásicos para la determinación de los *cloruros* (cuya eliminación se realiza en gran parte por la orina), de los *fosfatos*, etc.

Método de Volhard para la dosificación de los cloruros. — Los cloruros son precipitados en forma de Ag Cl, después de la adición de un exceso de nitrato de Ag (en cantidad conocida), en presencia de ácido nítrico. El exceso de Ag que queda disuelto se valora con una solución de sulfocianuro potásico, cuya riqueza se conoce empleando una sal férrica como indicador (formación de sulfocianuro de hierro, rojo, en presencia de un exceso de sulfocianuro de K).

Se necesitan estas soluciones:

a) Solución de $AgNO_3$: 29,063 gr. de sal fundida se disuelven en agua destilada hasta 1 litro (1 cc. de solución corresponde a 0,00606 gr. de cloro);

b) solución de sulfocianuro de K; 8 gr. de sal disueltos en agua hasta 1 litro. Valorar con la solución de nitrato de plata, de esta manera: se miden con exactitud 10 cc. de solución argéntica *a)*, se vierten en un frasco de 300 cc., se añaden 5 cc. de ácido nítrico puro, 5 cc. solución saturada de alumbre de hierro amoniacal y 80 cc. de agua. Con una bureta se deja caer solución de sulfocianuro hasta ligera coloración roja permanente; se forma primero un precipitado blanco de sulfocianuro de plata, y sólo cuando toda la plata está combinada, puede el sulfocianuro reaccionar con el hierro formando el compuesto rojo. Se determinan cuantos cc. de solución de sulfocianuro se han necesitado para combinarse con la plata de los 10 cc. de la solución de nitrato de Ag; si se han gastado n cc., significa que n cc. de solución de sulfocianuro corresponden a 10 cc. de solución de nitrato de plata, y que 1 cc. de solución de sulfocianuro corresponderá a $\frac{10}{n}$ de solución de nitrato argéntico.

c) salución saturada en frío de alumbre férrico-amoniacal; se aconseja, pero no es necesario, decolorar la solución con ácido nítrico, en cantidad suficiente para este fin.

d) ácido nítrico puro y exento de cloruros.

Para la determinación de los cloruros se procede de la manera siguiente: en un matraz aforado de 100 cc. se mezclan 10 cc. de orina, 4 cc. de ácido nítrico *d)* y 20 cc. de solución argéntica *a)*. Completar hasta 100 cc. Mezclar bien. Filtrar por filtro seco y recoger en una vasija seca. Tomar exactamente 50 cc. del filtrado (= a la mitad de orina empleada), añadir 5 cc. del indicador *c)* y valorar con la solución de sulfocianuro *b)*, que se deja caer con una bureta hasta coloración roja persistente. Si se necesitan m cc. de solución *b)*, haremos el siguiente cálculo: ya sabemos qué cantidad de solución argéntica corresponde a 1 cc. de solución de sulfocianuro: si en este caso hemos empleado m cc. de sulfocianuro, podremos calcular fácilmente la cantidad de solución de nitrato de plata a que corresponden. Sin embargo, recuérdese que se ha operado con la mitad del filtrado total; por lo tanto, la cantidad de solución de Ag combinada con el sulfocianuro en nuestra valoración, debe duplicarse. Así sabremos qué cantidad de los 20 cc. de solución argéntica se ha combinado con el sulfocianuro; restando ésta de 20 (porque se han puesto 20 cc. de solución argéntica para reaccionar con los cloruros de la orina) tendremos la cantidad de solución de $AgNO_3$ que ha reaccionado con los cloruros, y como sabemos que cada cc. de solución de $AgNO_3$ equivale a 0,00606 de cloro o a 0,01 de NaCl, podremos fácilmente deducir el Cl o los cloruros de los 10 cc. de orina, pasando luego a las cifras por ciento y por mil (1).

40. Método para la determinación de los fosfatos totales y de los sulfatos en la orina

El principio del método que vamos a describir para los fosfatos radica en la reacción que presentan los fosfatos con el acetato de uranio en solución neutra o débilmente acidulada con ácido acético:

$$KH_2PO_4 + UO_2(C_2H_3O_2)_2 = KC_2H_3O_2 + C_2H_4O_2 + UO_2HPO_4.$$

---

(1) *Minimetrische Methoden d. Blutuntersuch.* Edit. Gruyter, 1924.
(2) *Journ. of biol. Chem.*, vol. LXI, pág. 177, 1924.

(1) NaCl (en gramos por litro de orina) $= 20\left(1 - \frac{m}{n}\right)$.

Cl (en gramos por litro de orina) $= 12{,}12\left(1 - \frac{m}{n}\right)$.

(N. del T.).

El fosfato de uranilo que se forma, precipita (color blanco verdoso); la reacción es completa a la temperatura de ebullición de las soluciones. Para la orina el método se modifica un poco en cuanto a las proporciones de los reactivos.

Mídanse 50 cc. de orina en un recipiente grande o vaso de 200-300 cc., añádanse 5 cc. de solución acética de acetato sódico (que contenga 100 gr. de acetato sódico y 30 gr. de ácido acético por litro); hiérvase no demasiado violentamente. Mientras el líquido hierve, se añade gota a gota la siguiente solución: 35,461 gr. de acetato de uranilo, cuidadosamente pesados, diluídos con agua hasta 1 litro; 1 cc. de esta solución equivale a 0,002183 gr. de fósforo. Esta solución valorada es el reactivo que precipita los fosfatos, y el punto delicado del método (no del todo exacto, pero suficiente para las necesidades prácticas) consiste en determinar el punto final de la reacción, el momento en que todos los fosfatos han sido precipitados. Nos servimos, para ello, de otra reacción que las sales de urano dan con el ferrocianuro potásico, produciendo un precipitado oscuro: en efecto, cuando se ve que ya no se forma abundante precipitado, se toma una gota de la mezcla con una varilla, se pone en contacto con una gota de una solución al 10 % de ferrocianuro potásico en un pocillo de porcelana y se observa si se forma un precipitado rojo-pardusco; si no se produce, se continúa añadiendo la sal de urano a gotas, hasta que se demuestre el exceso de sal de urano (1).

Otros *componentes inorgánicos* se dosifican por los métodos corrientes en Química: así los sulfatos, por medio de la precipitación en forma de sulfato de bario (por medio de $BaCl_2$) que se recoge sobre un filtro de asbesto en un crisol de Gooch y se pesa después de una calcinación eficaz durante 10 minutos y de dejarlo enfriar en el desecador. Si se tratan 25 cc. de orina con cloruro de bario (generalmente 10 cc. de solución al 5 %) en líquido ácido (con 25 cc. de orina, 10 cc. de HCl diluído al 20 % y 100 cc. de agua) añadiendo el $BaCl_2$ a gotas sin agitar la orina diluída y acidulada, se precipitan los *sulfatos inorgánicos libres*, que pueden recogerse y pesarse de la manera dicha, en un crisol de Gooch.

Si se quieren determinar *todos* los sulfatos, hasta los combinados con unión etérea o conjugados, es necesario tratar la orina en caliente durante mucho tiempo con ácido, para romper las uniones etéreas: 25 cc. de orina, *se hierven durante media hora* con 20 cc. de HCl diluído al 1 : 5. También se pueden hervir 50 cc. de orina con 4 cc. de HCl concentrado (cubrir con un cristal grande de reloj durante la ebullición). Enfriar, diluir con agua hasta unos 150 cc. y luego precipitar con la solución al 5 % de $BaCl_2$, de la cual se necesitan 10 cc. Luego, al cabo de una hora aproximadamente, se filtra, etc.

41. Determinación de los cloruros de la sangre según Mandel y Steudel (*modificación del método de* Volhard)

El método consiste en precipitar (del filtrado desalbuminado obtenido por el método de Folin y Wu) los cloruros por medio de $AgNO_3$, en presencia de HNO_3, y en valorar el exceso de sal argéntica por medio del sulfocianuro amónico en presencia de alumbre férrico amoniacal como indicador (2).

Se necesitan los siguientes reactivos:

a) solución de $AgNO_3$: 4,791 gr. de nitrato de plata se disuelven en agua y la solución se completa hasta 1 litro: 1 cc. de esta solución equivale a 1 mgr. de cloro;

b) solución de sulfocianuro amónico cuidadosamente valorada: unos 2,5 gr. de NH_4CNS se disuelven en agua y se completan hasta 1 litro; luego se valora y diluye esta solución de manera que 5 cc. de ella correspondan a 5 cc. de la solución argéntica. La comparación con la solución argéntica se hace en presencia del mismo indicador que se emplea en la determinación, o sea el alumbre férrico amoniacal (sulfato de Fe y de amonio); según el resultado, se diluye más o menos la solución para obtener la correspondencia dicha (3).

---

(1) Fósforo (P), en gramos por litro = $n \times 0{,}04366$, siendo n el número de centímetros cúbicos gastados de la expresada solución de acetato de uranilo.— *(N. del T.)*

(2) Obra citada en la pág. 818.

(3) Si representamos por a el número de centímetros cúbicos de solución de sulfocianuro que equivalen a 5 cc. de solución argéntica, cada 100 cc. de solución de

Un cc. de esta solución corresponde entonces a 1 mgr. de cloro, o sea a 1,65 mgr. de NaCl.

c) el indicador citado; con el fin de usarlo concentrado es preferible emplearlo en polvo (fino), y no en solución.

Práctica de la determinación:

Diez cc. del filtrado desalbuminado se colocan en una cápsula de porcelana junto con 5 cc. de la solución argéntica *a)*. Se mezclan bien. Se añaden 5 cc. de ácido nítrico concentrado (peso específico = 1,42) se vuelve a mezclar y se deja en reposo 5 minutos. Entonces se añaden unos 0,3 gr. de *c)* en polvo y se pasa a valorar la plata en exceso por medio de la solución *b)*. El punto final se determina por el momento en el cual el color rojo (sulfocianuro de hierro) persiste unos 15 minutos aunque se agite bien. El cálculo se hace así: si se han necesitado n cc. de solución *b)* para combinar la Ag no combinada con los cloruros de la sangre, significa que estos últimos se han combinado con una cantidad de Ag correspondiente a $5 - n$ cc., esto es, a los 5 cc. de la solución argéntica empleada, disminuídos en la cantidad n. Entonces, en los 10 cc. de filtrado de sangre, o sea en 1 cc. de sangre, habrá $5 - n$ miligramos de cloro o $(5 - n) \times 1{,}65$ mgr. de Na Cl.

42. Determinación de los cloruros de la sangre según v. Slyke y Austin (1)

La sangre es lacada con agua y desalbuminada con ácido pícrico; se añade Ag NO_3 al filtrado para precipitar los cloruros en forma de cloruro de plata, y luego se valora el exceso de $AgNO_3$ con yoduro potásico en presencia de nitrito sódico y engrudo de almidón (formación de yoduro de Ag).

Se necesitan las siguientes soluciones:

a) solución acuosa saturada de ácido pícrico (conservada en la oscuridad).

b) solución ácida de $AgNO_3$, obtenida disolviendo 5,812 gr. de nitrato de plata y 250 cc. de HNO_3 concentrado (peso específico = 1,42) en agua hasta 1 litro;

c) solución cítrica de engrudo de almidón: se disuelven 2,5 gr. de almidón soluble en unos 500 cc. de agua hirviendo, se hierve durante algunos minutos, se añaden 446 gr. de citrato sódico cristalizado ($Na_3C_6H_5O_7 + 5\,{}^1/_2\,H_2O$) y 20 gr. de nitrito sódico. Se filtra en caliente por algodón y se deja enfriar. Se completa hasta 1 litro. Conservación indefinida:

d) solución de yoduro potásico $\frac{n}{58{,}5}$, de manera que 1 litro corresponda a 1 gr. de NaCl, y, por lo tanto, 1 cc. a 1 mgr. de NaCl. Se disuelven 3 gr. de KI en 1 litro de agua y se compara este líquido con la solución argéntica *b)* ajustándolo después de modo que 10 cc. de disolución de KI correspondan a 5 cc. de la solución *b)*. Con este fin se toman 5 cc. de solución *b)*, se le añaden 5 cc. de solución de almidón *c)* y se deja caer con la bureta solución al 3 ‰ de KI hasta coloración azul; entonces se diluye esta última solución de manera que se obtenga la correspondencia dicha entre 10 cc. de solución *d)* y 5 de solución *b)* (2).

He aquí cómo se practica la determinación: en un Erlenmeyer de unos 100 cc. se colocan (con una pipeta) 3 cc. de sangre y luego, con una bureta, 27 cc. de agua destilada; se agita y cuando la sangre está bien lacada, se añaden 30 cc. de solución *a)*. La sangre quedará, pues, diluída exactamente al 1 : 20. Se agita, se deja en reposo durante 10 minutos y se filtra. Se toman 40 cc. de filtrado, se añaden 10 cc. de solución argéntica *b)* y 2 gotas de alcohol amílico (para impedir la formación de espuma). Se mezcla bien y se deja en reposo durante algunas horas (una noche) para

---

sulfocianuro tendrán que ser diluídos hasta un volumen de $\frac{500}{a}$ centímetros cúbicos para lograr la correspondencia deseada. — *(N. del T.)*

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XLI, pág. 345, 1920. El método se deriva del de v. Slyke y Donleavy, *Id.*, vol. XXXVII, pág. 551, y del de Mc Lean y van Slyke, *Id.*, vol. XXI, pág. 361.

(2) Si representamos por a el número de centímetros cúbicos de solución de yoduro potásico que equivalen a 5 cc. de solución argéntica, cada 100 cc. de solución de yoduro tendrán que ser diluídos hasta un volumen de $\frac{1000}{a}$ centímetros cúbicos para lograr la correspondencia deseada. — *(N. del T.)*

que todo el AgCl se sedimente. Luego se decanta cuidadosamente, vertiendo el líquido en un filtro seco de manera que no se remueva el precipitado; se obtiene un filtrado claro, del cual se emplean 20 cc. para la determinación (que corresponde a 0,8 cc. de sangre); éste se hace sencillamente, añadiendo 4 cc. de la solución de almidón *e)* a los 20 cc. del filtrado, mezclando bien y luego dejando caer gota a gota por medio de una bureta, la solución *d)* de KI, hasta coloración azul permanente.

Cálculo: Se han añadido a 0,8 cc. de sangre 4 cc. de solución argéntica (porque se han mezclado 10 cc. de ésta con 40 cc. de filtrado desalbuminado correspondiente a 2 cc. de sangre, y luego se han tomado 20 cc. de los 50 cc. totales resultantes, o sea $^2/_5$ de los 10 cc. de solución argéntica y $^2/_5$ de los 2 cc. de sangre), y 4 cc. de esta solución argéntica corresponden a 8 cc. de solución de yoduro. Los cloruros de la sangre han fijado una cantidad de plata de los 4 cc.; la que queda disponible se combina con el yoduro añadido posteriormente. Si se necesitan n cc. de solución de yoduro para combinar la cantidad aun libre de plata, $8-n$ corresponderán a la fracción de Ag combinada con los cloruros de 0,8 cc. de sangre. Por consiguiente $(8-n) \times 125$ = mgr. de NaCl en 100 cc. de sangre. En el hombre se acostumbra a encontrar 5,62 gr. de NaCl por litro de sangre total.

43. Determinación del fósforo inorgánico y del fósforo total en el plasma o en el suero de la sangre, según Bell y Doisy (1)

Se funda en la conocida reacción por la cual el molibdato amónico con ácido fosfórico y en presencia de ácido nítrico, forma un precipitado de fosfomolibdato amónico, amarillo y cristalino: reacción cualitativa muy importante, más rápida si se calienta ligeramente. Se puede representar así:

$$H_3PO_4 + 12\,(NH_4)_2\,Mo\,O_4 + 21\,H\,NO_3 = \\ = (NH_4)_3\,PO_4 \,.\, 12\,Mo\,O_3 + 21\,(NH_4)\,NO_3 + 12\,H_2O.$$

El fosfomolibdato amónico es soluble en los álcalis y en un exceso de fosfatos alcalinos; la reacción debe desarrollarse en presencia de un exceso de molibdato para que sea completa. Precipitado todo el fósforo en forma de fosfomolibdato, se pensó en reducir el compuesto por medio de agentes reductores de manera que se obtuviesen derivados inferiores y coloreados de molibdeno, dosificables colorimétricamente: así Taylor y Miller emplearon la reducción del fosfomolibdato por la fenilhidracina, seguida de la valoración del molibdeno al colorímetro. Bell y Doisy encontraron que no era necesario precipitar el fosfomolibdato, porque los agentes reductores obran sobre el molibdeno combinado en forma de fosfomolibdato, pero no actúan sobre el existente en forma de ácido molíbdico. Esta observación es la base del método que vamos a describir, aplicable también a la orina (véase el original); dicha propiedad también fué observada, quizá independientemente, por Wu.

I. Fósforo inorgánico (fosfatos).

El plasma o suero es desalbuminado por precipitación de las proteínas con el ácido tricloracético; el filtrado se trata con ácido molíbdico, que se combina con el ácido fosfórico formando ácido fosfomolíbdico. Este se dosifica colorimétricamente previa reducción con hidroquinona, que desarrolla una coloración azul.

Se necesitan las siguientes soluciones:

a) solución de ácido molíbdico: se disuelven en frío 50 gr. de molibdato amónico en 1 litro de solución de H_2SO_4 normal (exento de fosfatos!).

Para comprobar si el molibdato es puro, se mezcla 5 cc. de esta solución con 5 cc. de la solución de hidroquinona que se describirá inmediatamente, se añaden 25 cc. de la solución de sulfito y carbonato sódico, que también se describirá, y se deja en reposo 5 minutos: debe obtenerse una mezcla del todo incolora. En caso contrario, es señal de que los reactivos no son puros, y para purificar el molibdato amónico debe seguirse el procedimiento indicado por Bell y Doisy (véase el trabajo original).

b) Solución de hidroquinona: 20 gr. de hidroquinona pura se disuelven en 1 litro de agua (exenta de fosfatos!) y se añade 1 cc. de ácido sulfúrico concentrado. Una parte de la hidroquinona se oxida a quinona al cabo de cierto tiempo, pero esto no

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XLIV, pág. 55, 1920.

tiene importancia porque la quinona se reduce nuevamente a hidroquinona al añadir la solución alcalina de sulfito. De todos modos, esta solución debe conservarse en frasco bien tapado.

c) Solución alcalina de sulfito sódico: a 2 litros exactos de una solución al 20 % de carbonato sódico, se añaden 75 gr. de sulfito sódico disuelto en 500 cc. de agua. Fíltrese después.

d) Solución tipo de fosfato monopotásico: en un desecador de ácido sulfúrico se deseca durante varios días fosfato monopotásico (KH_2PO_4) finamente pulverizado. Luego se disuelven en agua (exenta de fosfatos!) 4,394 gr. de dicho fosfato y se diluye hasta 1 litro. Un cc. de esta solución contiene 1 mgr. de P. Consérvese en botella bien cerrada, mejor con un poco de cloroformo, para evitar el desarrollo de mucedíneas. De esta solución madre se prepara la solución tipo que debe renovarse cada vez o cada pocos días, colocando 5 cc. de la primera en un matraz aforado y completando hasta 1 litro, es decir, diluyéndola al 1 : 200. Entonces la solución tipo *definitiva* contiene 0,005 mgr. de P. por cc. y 0,025 mgr. por 5 cc.

He aquí cómo se hace la determinación: en un matracito aforado de 25 cc. se ponen 5 cc. de plasma o suero, 15 cc. de agua y 5 cc. de una solución al 20 % de ácido tricloracético. Se agita, se completa hasta la señal con agua y se deja en reposo 10 minutos; el suero queda diluído al 1 : 5, pero si se trabaja con sangre total o con suero muy rico en fosfatos, es necesario diluirlo al 1 : 10, empleando un matraz de 50 cc. o bien partiendo de 2,5 cc. de substancia. Se filtra por un filtro exento de fosfatos (lavado con ácido). En un matraz aforado de 25 cc. se mezclan 10 cc. del filtrado (= 2 cc. de suero o bien 1 cc. de sangre o suero si se ha diluído al 1 : 10), 1 cc. de la solución molíbdica *a)* y 2 cc. de la solución de hidroquinona *b)*. Al mismo tiempo, en otro matraz igual se ponen 10 cc. de la solución tipo definitiva según *d)* que contiene 0,05 mgr. de P, 2 cc. de la solución de ácido tricloracético al 20 %, 1 cc. de la solución *a)* y 2 cc. de la solución *b)*. Claro está que si el material que se examina (sangre total) fué diluído al 1 : 10, en el matraz en que se pone el tipo de comparación debe echarse solamente 1 cc. de la solución al 20 % de ácido tricloracético. Pasados 5 minutos se añaden a cada uno de los dos matracitos 10 cc. de la solución de sulfito *c*), se completa hasta la señal y se agita. Al cabo de 5-10 minutos se hace la lectura colorimétrica. Si se ha diluído el suero al 1 : 5, se hace el cálculo de la manera siguiente: si la solución tipo se pone en el Duboscq a 20 mm. y la otra presenta una solución igual cuando se observa en un espesor n, la cantidad de P del tipo estará respecto a la de dilución de sangre como $\frac{1}{20} : \frac{1}{n}$.

Pero en la solución tipo hay 0,05 mgr. de P y, por lo tanto, la cantidad contenida en la otra solución (la de sangre) se encontrará por medio de la siguiente proporción:

$$\frac{1}{20} : \frac{1}{n} = 0{,}05 : x,$$

de donde:

$$x = \frac{1}{n} \times 0{,}05 \times 20 = \frac{1}{n}.$$

Pero en la solución que examinamos tenemos solamente el P de 2 cc. de suero, por lo cual, si queremos saber la cantidad de P existente en 100 cc. de suero, deberemos multiplicar dicha cifra por 50. Colocando el tipo a 20 tendremos, pues, $\frac{50}{n}$ = mgr. de P. por 100 cc. de suero.

Si se ha diluído el suero o la sangre al 1 : 10, tendremos $\frac{100}{n}$ = mgr. de P por 100 cc. de suero o sangre.

II. Fósforo total (soluble en los ácidos).

Se determina de una manera análoga con 10 cc. del filtrado desalbuminado, obtenido por el tratamiento con ácido tricloracético. Esta cantidad de filtrado se coloca en un tubo de cristal de Jena con 6-8 gotas de H_2SO_4 concentrado; se añade una perla de vidrio y se calienta, primero lentamente y luego con más fuerza, hasta que no queden más que un par de cc. de líquido. Entonces se añade 1 cc. de ácido nítrico concentrado y se continúa calentando hasta que se haya eliminado todo el ácido nítrico y quede un líquido incoloro.

Se lleva entonces la substancia a un matracito aforado de 25 cc., junto con unos 10 cc. de agua, que sirven para lavar bien el tubo, y se procede a la determinación

como para el fósforo inorgánico. En efecto, con el tratamiento por el calor con los ácidos minerales concentrados no se ha hecho más que destruir la substancia orgánica y mineralizar todo el P.

La solución tipo se emplea más o menos concentrada (obtenida a partir de la solución madre) según las cifras de P inorgánico encontradas. También en este caso se añaden 5-6 gotas de H_2SO_4 concentrado para colocarse en las mismas condiciones de la solución que se examina. No es necesario en este caso poner ácido tricloracético en la solución de comparación, porque este ácido ha sido expulsado de la solución que se examina durante la destrucción de la materia orgánica.

El cálculo se hace como antes.

El plasma normal (en el hombre) contiene, según los autores, 3,5-3,9 mgr. de P inorgánico y 4-5 mgr. de P total en 100 cc.

Adviértase que los oxalatos y citratos empleados para impedir la coagulación de la sangre (cuando se quiere estudiar el plasma o la sangre total) perturban la reacción coloreada, por lo cual sólo debe emplearse este método para materiales no tratados con estas sales orgánicas (v. método siguiente). Por lo demás, dichas sales son destruídas en la determinación del P total, antes de llegar a la reacción cromática, por lo cual su presencia sólo representa un inconveniente para la determinación del P inorgánico.

44. Determinación del fósforo inorgánico en la sangre y orina según Briggs (1)

Es una modificación del método precedente, que trata de evitar el inconveniente atribuído a éste: en efecto, según Denis (2), los oxalatos y citratos no dificultarían la reacción coloreada que se emplea en el procedimiento que vamos a describir. Consiste en la reacción del P con el ácido fosfomolíbdico como en el método precedente, pero no en líquido alcalino, sino en solución ácida.

Se necesitan los mismos reactivos: la única diferencia es que la solución de sulfito se hace sin carbonato, siendo una simple solución al 20 % de Na_2SO_3, y la de hidroquinona es más diluída (5 gr. de hidroquinona en 1 litro de agua, con 5 cc. de H_2SO_4). Como tipo se usa para la orina una solución que contiene 0,4394 gr. de KH_2PO_4 *seco* por litro, de la cual 1 cc. contiene 0,1 mgr. de P: para la sangre se emplea una dilución acuosa de 25 cc. de la precedente hasta 200 cc. (2 cc. = 0,025 mm. de P); ambas se conservan añadiéndoles un poco de cloroformo.

Se miden 2-5 cc. (exactamentel) de plasma o de sangre en un pequeño Erlenmeyer y se diluyen con 3 volúmenes de agua y 1 volumen de solución al 20 % de ácido tricloracético. Se tapa bien, se agita bien y se deja en reposo 10 minutos. Se filtra por un filtro seco de análisis. En un matracito aforado de 10 cc. se colocan 5 cc. de filtrado (= 1 cc. de plasma o de sangre), y en otro matracito igual, 2 cc. de la solución fosfórica tipo (de la más diluída). A ambos matraces se añaden 2 cc. de solución molíbdica, 1 cc. de la solución de hidroquinona y 1 cc. (al final, después de haber mezclado el contenido de los matraces) de la solución de sulfito; se completa con agua hasta la señal. Al cabo de 30 minutos de reposo se hace la lectura colorimétrica (3).

El método puede aplicarse a la orina; en un matraz aforado de 100 cc. se colocan 1-5 cc. de orina acidulada (de manera que se obtengan unos 0,5 mgr. de P) y en otro igual, 5 cc. de la solución tipo más concentrada (0,1 mgr de P por cc.). Diluir con agua hasta unos 80 cc. Añadir a ambos 5 cc. de solución molíbdica, 1 cc. de la de sulfito y 1 cc. de la de hidroquinona. Completar el volumen. Dejar en reposo media hora y luego hacer la lectura colorimétrica y el cálculo (4).

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. LIII, pág. 13, 1922.

(2) *Id.*, vol., LII.

(3) Si suponemos que al hacer la lectura en el colorímetro penemos la solución tipo a 20 mm. y obtenemos igualdad de coloración cuando la dilución de sangre está a una altura de n milímetros, el número de miligramos de P contenidos en 100 cc. de sangre (o plasma) será igual a $\frac{50}{n}$. — *(N. del T.)*

(4) Si suponemos que al hacer la lectura en el colorímetro ponemos la solución tipo a 20 mm., y representamos por n la altura en milímetros a la cual hemos obtenido igualdad de coloración con la dilución de orina y por v el volumen de orina del cual se ha partido, podremos escribir:

P en gramos por litro de orina $= \frac{10}{nv}$. *(N. del T.)*

45. Determinación del sodio en el suero de la sangre según Kramer y Tisdall (1)

El sodio es precipitado en forma de piroantimoniato sódico; se recoge éste, se deseca y se pesa. En efecto, las sales de sodio reaccionan con el piroantimoniato potásico (en solución neutra o débilmente alcalina), dando un precipitado blanco, cristalino, de piroantimoniato de sodio, cuya formación se acelera rascando las paredes del tubo con una varilla de vidrio; he aquí la reacción empleada en análisis cualitativo: $K_2H_2Sb_2O_7 + 2Na\,Cl = Na_2H_2Sb_2O_7 + 2KCl$.

La solución necesaria es la siguiente: se ponen a hervir en un matraz de cristal de Jena 500 cc. de agua destilada, se añaden unos 10 gr. de piroantimoniato de potasio, se continúa hirviendo durante 5 minutos y se enfría con agua corriente, bajo la espita. Se añaden después 15 cc. de una solución al 10 % de K O H (para análisis, purificada con alcohol), se filtra y se recoge en un frasco parafinado. Antes de emplear este reactivo compruébese que no precipita por sí solo al añadirse alcohol (que se emplea en la determinación).

Se procede de la manera siguiente:

Se colocan 2 cc. de suero en una cápsula de platino (o también de porcelana buena), se añaden 10 cc. de la solución de piroantimoniato potásico y luego, gota a gota y agitando continuamente con una varilla de vidrio con el extremo cubierto de goma, 3 cc. de alcohol de 95 %. Se deja en reposo 45 minutos, se filtra por un crisol de Gooch (previamente desecado y pesado) y se lava el precipitado sobre el filtro con 8-12 cc. de alcohol al 30 %. Luego se deseca el crisol con el precipitado (piroantimoniato sódico) durante una hora a 110°, se deja enfriar en un desecador y se pesa. Se resta el peso del crisol: el peso (en mgr.) del precipitado así averiguado, dividido por 11,08, da la cantidad de Na en 2 cc. de suero. Normalmente se obtienen 325-345 mgr. de sodio por 100 cc. de suero humano.

Es conveniente haber filtrado previamente piroantimoniato sódico por el crisol de Gooch (2); así los poros están suficientemente ocluídos para retener el finísimo precipitado.

También el amoníaco es precipitado al mismo tiempo que el sodio en forma de piroantimoniato, pero en el suero existe en cantidades tan pequeñas que no comprometen la exactitud de la determinación. También son arrastrados fosfatos de cal, pero éstos no pasan de 0,5 mgr. y, por lo tanto, pueden ser despreciados.

46. Determinación del potasio en el suero de la sangre según Kramer y Tisdall (3)

El método se funda en el principio de que el K es precipitado por el cobaltinitrito de sodio (en solución neutra o débilmente ácida) en forma de cobaltinitrito de sodio y potasio (amarillo y cristalino) según la seguiente reacción:

$$[Co\,(NO_2)_6]\,Na_3 + 2\,K\,Cl = 2\,Na\,Cl + [Co\,(NO_2)_6]\,K_2\,Na.$$

En el suero se verifica la misma reacción, y también el K unido a las proteínas toma parte en ella, porque a medida que se combinan las primeras porciones de K por el reactivo de nitrito de cobalto, los proteinatos de K, se disocian, como se comprende bien si se reflexiona que en tales condiciones se rompe el equilibrio existente entre los K-cationes, el K unido a proteinatos no disociados y los aniones proteicos. Los autores llevan a cabo la reacción en un líquido cuya concentración de H-iones

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XLVI, pág. 467, 1921.

(2) El filtro de Gooch es conveniente prepararlo con papel de filtro en el fondo; sobre éste se pone una capa de asbesto, luego otra capa de papel de filtro y otra de asbesto encima.

(3) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XLVI, pág. 389, 1921.

corresponde a un pH = 5,7 de manera que resulta alcalino respecto al punto isoeléctrico de las proteínas del suero, el cual corresponde a un pH = 4,7-5,4; por lo tanto, las proteínas no precipitan y no perturban la reacción. Después se valora el compuesto cobaltipotásico por medio de su acción reductora sobre el permanganato.

Se necesitan las siguientes soluciones:

a) Reactivo de nitrito de cobalto. Se prepara una solución I con 25 gr. de nitrito de cobalto, disueltos en 50 cc. de agua destilada y 12,5 cc. de ácido acético, y una solución II disolviendo 120 gr. de nitrito sódico MERCK en 180 cc. de agua. Toda la solución I se mezcla con 210 cc. de la solución II y se hace pasar una corriente de aire por el líquido hasta la completa desaparición de los vapores parduscos de NO; en la nevera se conserva aproximadamente un mes. Tiene un pH = 5,7.

Filtrese siempre antes de usarla.

b) Solución de H_2SO_4 cuatro veces normal (20 cc. de H_2SO_4 concentrado diluídos hasta 100 cc. con agua destilada).

c) Solución de permanganato potásico $\frac{n}{50}$. Se prepara diluyendo 1 : 5 la solución $\frac{n}{10}$ y se valora de la manera acostumbrada con una solución $\frac{n}{100}$ de oxalatao sódico. Esta última se obtiene también diluyendo al 1 : 10 una solución $\frac{n}{10}$ de oxalato sódico, que se debe tener siempre dispuesta y que se prepara así: se disuelven 6,7 gr. de oxalato sódico purísimo en unos 500 cc. de agua, se añaden 5 cc. de H_2SO_4 concentrado y se diluye (en un matraz aforado) hasta 1 litro.

He aquí cómo se procede: en un tubo graduado de centrifugador se coloca 1 cc. de suero, se añaden *lentamente* 2 cc. del reactivo *a)* y se mezcla bien. Pasados 45 minutos se añaden 2 cc. de agua, se agita y se centrifuga durante media hora. Se tira con gran cuidado el líquido claro, hasta la división 0,3, procurando no remover el precipitado, y se añaden lentamente 5 cc. de agua destilada, cuidando siempre de no remover el precipitado; se centrifuga 5 minutos. Estas operaciones se repiten tres veces (4 centrifugaciones en total). Lavado de este modo el precipitado, se añade un exceso de solucion de $KMnO_4$ $\frac{n}{50}$ (unos 2 cc. bastan para los sueros normales), luego 1 cc. de H_2SO_4 4 *n* y se mezcla con una varilla de vidrio delgada. Se calienta al baño maría hasta que el color no se modifique (cerca de 1 minuto y medio) y con una bureta se añade solución $\frac{n}{100}$ de oxalato sódico hasta que se produzca la decoloración completa (generalmente bastan 2 cc.). Se valora el exceso de oxalato con solución $KMnO_4$ $\frac{n}{50}$ hasta coloración rosa.

El cálculo se hace de la manera siguiente. Se ha añadido permanganato dos veces, o sea que primero se ha oxidado con éste el compuesto cobaltipotásico aislado y lavado, y luego una cierta cantidad conocida de oxalato. Sin embargo, es necesario saber qué cantidad de permanganato ha servido para oxidar el compuesto cobaltipotásico, y como se sabe que 1 cc. de $KMnO_4$ $\frac{n}{100}$ oxida una cantidad de cobaltinitrito de potasio que corresponde a 0,071 mgr. de K, la cantidad *total* (en cc.) de permanganato necesarios para oxidar el cobaltinitrito de potasio obtenido de 1 cc. de suero, multiplicada por 7,1 nos dará la cantidad (en mgr.) de K en 100 cc. de suero. Pero ¿cómo se sabe la cantidad de permanganato que ha sido necesaria para oxidar el cobaltinitrito?

Si se han añadido primero 2 cc. de permanganato $\frac{n}{50}$ y se han necesitado, por ejemplo, 0,43 en la valoración final, serán 2,45 los que han oxidado el cobaltinitrito y el oxalato, del cual suponemos que hemos puesto 2 cc. Siempre cuando se valora con permanganato, se hacen ensayos en blanco (con agua) y supongamos que este ensayo hubiere dado en este caso 0,03 cc. de permanganato como necesarios para comunicar al agua la misma intensidad de color: sustraeremos este volumen y tendremos 2,40 cc. como verdaderamente empleados en total. Es necesario ahora multiplicar por 2, para convertir los valores obtenidos con la solución $\frac{n}{50}$ en valores $\frac{n}{100}$; de los 4,80 resultantes hay que restar luego 2 cc. equivalentes a los 2 cc. de oxalato $\frac{n}{100}$ empleados para decolorar la muestra que se examina: quedan 2,80 cc. que multiplicados por 7,1 dan la cantidad de K (en mgr.) contenida en 100 cc. de suero. En este caso tendremos 19,9.

47. Determinación del calcio del suero de la sangre según Kramer y Tisdall (1)

Se precipita el Ca en forma de oxalato de cal y éste se recoge y se determina, en presencia de ácido sulfúrico, con una solución valorada de permanganato. Además del ácido sulfúrico normal se necesita una solución $\frac{n}{10}$ de oxalato sódico, preparado disolviendo 6,7 de esta sal en 1 litro de agua con adición de 5 cc. de H_2SO_4; otra $\frac{n}{100}$ de la misma sal; una solución $\frac{n}{10}$ de permanganato potásico valorada con la $\frac{n}{10}$ de oxalato y una $\frac{n}{100}$ de permanganato, valorada mediante la $\frac{n}{100}$ de oxalato. Además se necesita una solución saturada de oxalato amónico.

Se procede de esta manera:

2 cc. de suero se colocan en un tubo graduado de centrifugador, con 2 cc. de agua destilada y 1 cc. de solución saturada de oxalato amónico. Se mezcla y se deja media hora en reposo. Se diluye hasta 6 cc. y se vuelve a mezclar. Se centrifuga durante 10 minutos, se vierte con cuidado el líquido claro hasta llegar a la división 0,3 se diluye hasta 4 cc. con solución al 2 % de amoníaco y se centrifuga durante 5 minutos más. Se vuelve a tirar el líquido hasta 0,3 cc., se añade solución amoniacal como antes, se vuelve a centrifugar, etc., y se repiten otra vez todas estas operaciones. De este modo se lava bien (tres centrifugaciones en total) el precipitado de oxalato de cal, de manera que no quede substancia orgánica capaz de reaccionar con el permanganato. Al final se añaden 2 cc. de H_2SO_4 aproximadamente normal, se calienta al baño maría durante pocos minutos y se valora con solución de permanganato $\frac{n}{100}$ (con una microbureta dividida en 0,02 cc.) hasta color rosa persistente durante 1 minuto. El número de cc. de solución $\frac{n}{100}$ de $KMnO_4$, así empleados, multiplicados por 0,2 da el número de mgr. de Ca existentes en el volumen de suero de que se ha partido; (es decir, en 2 cc. de suero, por lo cual es necesario multiplicar aun por 50 para obtener la cifra por ciento).

Es conveniente hacer siempre un ensayo en blanco, con agua en lugar de suero para ver qué cantidad de permanganato es necesario en este caso para dar la misma intensidad de color que adquiere el suero, y restar esta cifra de los centímetros cúbicos empleados en el análisis. La cifra así obtenida, la única verdaderamente correspondiente al Ca, se multiplica por 0,2, etc. Valores normales (para 100 cc. de suero): 9,5-10,5 mgr.

CLARK (2) tiene también un micrométodo, fundado en los mismos principios, para la determinación *directa* (sin incineración previa) del Ca en el plasma, suero o sangre total; en este trabajo se encuentra también un buen resumen de los diferentes métodos.

Los alemanes emplean mucho el método de DE WAARD (3).

48. Determinación de la capacidad de la sangre para fijar CO_2 como medida de los álcalis fijos de reserva, según van Slyke y Cullen (4)

Los ácidos no volátiles, productos intermedios del metabolismo, son combinados con los álcalis fijos del plasma y eliminados así por la orina. Hay, pues, una especie de competencia entre estos productos ácidos y el CO_2 para la conquista de

(1) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XLVII, pág. 475, 1921.
(2) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XLIX, pág. 487, 1921.
(3) *Bioch. Zeitschr.*, vol. XCVII, 1919.
(4) *Journ. of biol. Chem.*, vol. XXX; véanse también sucesivamente v. SLYKE y STADIE, vol. XLIX.

los álcalis (Na, K) del plasma y, como se ha explicado en el Cap. VI, Sec. II de la II Parte, cuanto más aumenta la producción de ácidos no volátiles (ácidos láctico, acetacético y sulfúrico) tanto más disminuye la capacidad de la sangre para fijar CO_2 (en forma de bicarbonato sódico principalmente). La riqueza en $NaHCO_3$ sirve, pues, de indicador del régimen de los ácidos no volátiles, y disminuye cuando éstos aumentan (acidosis).

La cantidad de bicarbonato se deduce de la cantidad de CO_2 que la sangre puede ceder *en el vacío*. Sería difícil hacer mediciones fáciles y claras operando directamente sobre la sangre o plasma; es mucho más cómodo saturar la sangre con CO_2, esto es ponerla en condiciones de combinar la mayor cantidad posible de CO_2 en forma de bicarbonato, y luego determinar el CO_2 que puede ceder en el vacío: esta determinación da idea de los álcalis fijos que estaban antes en disposición de formar bicarbonato con el CO_2, es decir, de los álcalis no fijados por los diversos ácidos.

Puede saturarse el plasma agitándolo con una mezcla gaseosa que contenga por lo menos 5,5 % de CO_2; pero v. Slyke aconseja como más cómodo y sencillo, tratar la sangre con el aire expirado por el operador. Se necesita, pues:

1.° extraer la sangre, haciéndola incoagulable y recogiéndola bajo una capa de aceite de parafina;

2.° exponer el plasma obtenido a una atmósfera rica en CO_2, constituída por aire procedente del pulmón el operador;

3.° hacerle ceder en el vacío *todo* el CO_2 fijado y medir este CO_2. Normalmente 100 cc. de sangre pueden producir una cantidad tal de bicarbonato que ceda 65-95 cc. de CO_2 medidos a la presión ordinaria y a la temperatura del laboratorio.

Se necesita un sencillo dispositivo para saturar el plasma de CO_2, que consta, según v. Slyke y Cullen, de un frasco de doble tubuladura, lleno hasta los $^2/_3$ o $^1/_2$ con perlas de vidrio y de un embudo de llave, con tapón esmerilado que cierre bien (véase fig. 19); además se requiere el aparato de v. Slyke, representado en la figura 20, para la extracción del CO_2 en el vacío.

Se necesitan, además, los siguientes reactivos:

a) alcohol amílico u octílico (para impedir la formación de espuma),

b) amoníaco al 1 % que contenga un poco de anaranjado de metilo y esté exento de bicarbonatos. Se toma amoníaco común al 1 % y se le añade un poco de solución saturada de hidrato de bario; si el amoníaco contiene carbonatos, se forma carbonato de bario, que precipita. Se filtra, y del filtrado se elimina el resto de $Ba(OH)_2$, añadiéndole un poco de sulfato amónico, que forma sulfato de Ba insoluble; se filtra otra vez y se tiene la solución adecuada de NH_3, que debe servir para impedir que el plasma pierda CO_2 antes de ser colocado en el aparato de extracción.

c) solución al 5 % de H_2SO_4, que sirve para facilitar la liberación de CO_2 en el vacío.

He aquí cómo se procede:

La sangre puede extraerse de una vena con una aguja gruesa que lleva un tubo de goma parafinado que llega hasta el fondo de un tubo de ensayo en donde hay oxalato sódico o potásico en polvo y aceite de parafina: así la sangre a medida que llega al tubo se mezcla con el oxalato y queda protegida del contacto del aire por la capa de aceite de parafina. Después de bien mezclada con el oxalato puede centrifugarse la sangre y obtenerse así el plasma.

Pero, si no deben hacerse otras determinaciones gasométricas, se puede extraer sencillamente la sangre de la manera acostumbrada, añadiéndole oxalato, sin precauciones especiales para evitar el contacto del aire, porque el plasma está destinado, de todos modos, a ser saturado de CO_2.

La saturación se hace colocando el plasma en el embudo de llave (3-3,5 cc. de plasma en un embudo de $^1/_4$ de litro) disponiendo el embudo horizontalmente, uniendo la salida del embudo, por medio de un tubo de goma, con el frasco semilleno de perlas de vidrio, según se ve en la figura 19 y, con el embudo destapado, soplando por el otro tubo del frasco. El aire expirado pasa de este modo a través de la botella, perdiendo en las perlas de vidrio el vapor de agua, y se desliza por encima de la capa de sangre depositada en la parte interior del embudo, colocado horizontalmente. No hay necesidad de expirar forzadamente, sino hacer por el tubo una docena de expiraciones tranquilas, consecutivas a inspiraciones profundas (hechas en el aire exterior). Luego se cierra con el tapón esmerilado la boca libre del embudo, procurando poner el tapón en el momento en que se va a terminar una expiración, pero *antes* de que esté acabada. El embudo, cerrado también por la parte de la salida se hace girar alrededor de su eje, de manera que el plasma quede bien expuesto al contacto con el aire del embudo, rico en CO_2; cuando se han de practicar numerosas determinaciones, v. Slyke emplea una especie de telar, en el que se fijan los embudos con el plasma y el aire expirado y que se hace girar con una manivela. Se puede volver a abrir el embudo, repetir 12 expiraciones por el mismo procedimiento, cerrar

y volver a mezclar. Así se tiene el plasma saturado de CO_2 y preparado para la determinación en el aparato especial (fig. 20). Para este aparato se necesitan 1600 gr. de mercurio (se requieren menos para un modelo posterior para microanálisis): el mercurio se hace bajar o subir en el aparato haciendo maniobrar el embudo de nivelación desde la posición elevada (1) a la media (2) o a la inferior (3) (que está unos 80 cm. debajo de la anterior) o viceversa. El aparato es enteramente de vidrio y está fijado a un soporte del cual es fácil sacarlo y volverlo a fijar. El embudo de nivelación está unido al extremo inferior del aparato por medio de 1,5 m. aproximadamente de buen tubo de goma.

La figura 20 demuestra bastante bien la forma del aparato y el juego de las dos llaves. El tubo comprendido entre estas dos, delgado por arriba y ensanchado en la parte baja formando una especie de depósito, está graduado desde arriba; en la porción estrecha lo está en centésimas o quincuagésimas de cc.; ahí es donde debe recogerse y medirse el CO_2 liberado.

El principio fundamental del aparato, que es una especie de pipeta de 50 cc. en total, es el siguiente: una vez lleno de mercurio se introduce por arriba (por *b*) el plasma con la solución ácida; luego se hace el vacío de *Torricelli* haciendo bajar

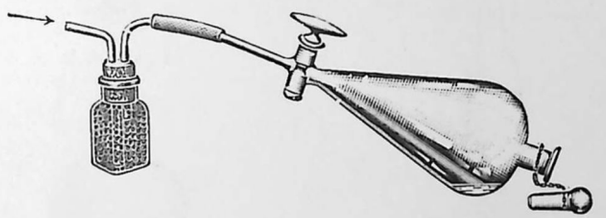


Fig. 19. Dispositivo para saturar el plasma con CO_2, según v. Slyke y Cullen (*Journ. of biol. Chem.*, vol. XXX, pág. 309)

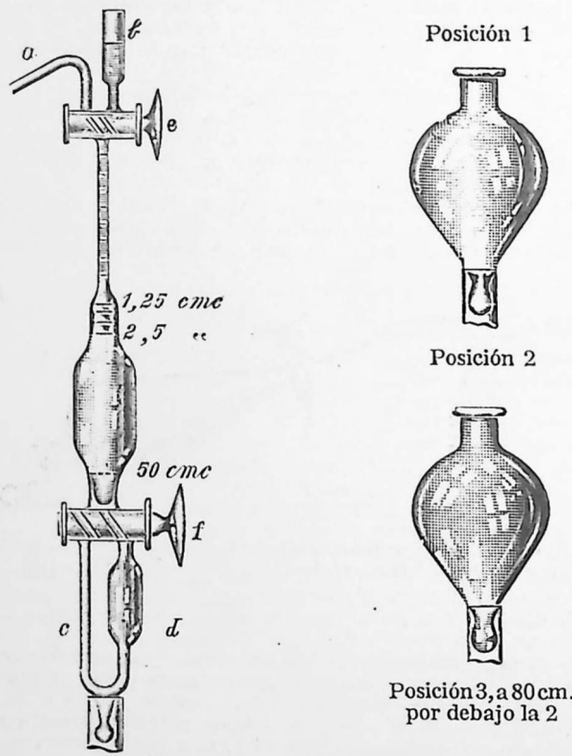
el mercurio hasta *f*) y se desprende el CO_2. Entonces es necesario separar las soluciones empleadas y el plasma, y con este fin se hacen pasar al depósito lateral *d*), que luego se aisla del recipiente graduado, en el cual se vuelve a introducir (por *e*) solamente el mercurio; así en la pipeta o porción principal (comprendida entre las dos llaves) del aparato no queda más que el CO_2, cuyo volumen es fácil de medir por la posición del menisco de mercurio en la parte estrecha del mismo aparato. El depósito *d*) para recoger el líquido después de la liberación del CO_2 y la disposición del tubo *c* para hacer entrar nuevamente el mercurio en la pipeta son lo que da originalidad al aparato de v. Slyke. El capilar *a*) sirve para dar salida a las soluciones.

Es necesario, antes de hacer la determinación con el plasma, comprobar el cierre hermético y el perfecto funcionamiento del aparato. Con este fin se llena de mercurio el embudo de nivelación, manteniéndolo en la posición 1, de manera que el mercurio llegue a la llave *e* que se cierra; luego se hace bajar el embudo hasta la posición 3, manteniendo abierta la llave inferior de manera que el nivel del mercurio esté por debajo de esta llave y se forme encima, en todo el depósito graduado, parte estrecha y parte ancha, el vacío de Torricelli. Se espera un poco: si los cierres no son perfectos, penetra aire dentro. Entonces se hace subir el nivel del mercurio (levantando el embudo) hasta la llave superior. Si ha penetrado aire, éste impedirá que el mercurio se vuelva a poner en contacto con esta llave; entonces hay que repasar minuciosamente las llaves, procurando que encajen perfectamente (lubrificación cuidadosa) y repetir la prueba anterior. Si no ha entrado aire, cuando se vuelve a levantar la columna de mercurio y éste toca el cristal del cierre superior, debe producirse un ruido metálico especial: el aire hace de amortiguador y lo impide. Cuando el aparato no ha sido usado todavía, hay siempre una capa de aire adherido al vidrio y a los tubos. Comprobada la permeabilidad perfecta, se hace la determinación: se llena de mercurio todo el aparato (incluso los capilares que hay por encima de la llave superior) subiendo hasta una altura adecuada el embudo de nivelación. Entonces se pone en la pequeña probeta de cristal, graduada, de encima de la llave *e*) (a la derecha) 3 gotas de amoníaco al 1 % (*b*), para eliminar todo indicio de ácido (para esto sirve también el indicador) y luego, por medio de una pipeta, se hace pasar *debajo* de esta solución amoniacal 1 cc. de plasma saturado como se ha dicho.

Es necesario que el plasma no salga a chorro fino de la pipeta, sino que se

deposite precisamente debajo del líquido, porque el CO_2 podría escaparse en caso contrario.

Abriendo con cuidado la llave superior, y mientras la *f* está en la posición representada en la figura y el embudo de nivel está en la posición 2, se hacen pasar



Posición 1

Posición 2

Posición 3, a 80 cm. por debajo la 2

FIG. 20. Aparato de v. Slyke (*Jorn. of biol. Chem.*, vol. XXX, página 347) para medir el CO_2 de la sangre previamente saturada

el amoníaco y el plasma al interior del aparato (el capilar que une la probeta o pequeño depósito *b* con la llave *e* debe quedar siempre lleno). Se coloca en la pequeña probeta de cristal 1 cc. de agua y se hace pasar también al interior (para arrastrar todos los residuos de plasma); después se añade cosa de 0,5 cc. de H_2SO_4 al 5 %, que se hace pasar también con cuidado dentro del aparato. También se introduce en él una *pequeña* gota de alcohol caprílico, pero siempre antes que el ácido: éste debe ser el *último reactivo* en todos los casos.

Finalmente, se puede hacer pasar una gota de mercurio hasta la llave para sellar en cierto modo el cierre de ésta. El capilar de *b* (debajo de la probeta graduada) no debe quedar nunca vacío, si se quiere que no penetre aire en el aparato. El volumen total de las soluciones acuosas debe ser de 2,5 cc. Ahora, cerrando bien la llave superior, se hace descender el embudo de nivelación hasta la posición 3, de manera que el mercurio llegue en el aparato hasta la señal 50, por debajo de la parte ensanchada. Entonces en la pipeta hay 2,5 cc. ocupados por las soluciones acuosas (incluyendo el plasma) y 47,5 vacíos. Se cierra la llave *f*, se separa el aparato de su soporte y se invierte unas 15 ó más veces, para establecer el equilibrio en el reparto del CO_2 entre el agua y el espacio vacío. Luego se vuelve a colocar en el soporte. Dando vuelta con cuidado a la llave *f*, se hace pasar la solución acuosa a *d*, procurando que no pase nada de gas. Entonces con la mano derecha se da vuelta a la llave *f* de manera que se pongan en comunicación la pipeta, o porción central del aparato,

y el tubo *c*, y con la izquierda se levanta el embudo de nivelación de modo que el mercurio pase por *c* y llene de nuevo todo el aparato menos la porción (en la parte alta, en el sector delgado y calibrado) que es donde ahora se recoge el CO_2 separado de la sangre.

El embudo se coloca de manera que el nivel del mercurio que contiene y el del que se halla en el aparato se correspondan; es decir, de modo que el CO_2 se encuentre en el tubo calibrado a una presión igual a la exterior (= presión atmosférica del momento de la operación). Encima del mercurio queda siempre un poco de solución acuosa, que no ha podido pasar a *d*, pero la absorción de CO_2 por ella es despreciable si se hace la lectura inmediatamente. Se lee el volumen del CO_2, teniendo en cuenta, naturalmente, el espacio que esta pequeña cantidad de solución acuosa ocupa por encima del menisco superior.

Acabada la determinación, se hace descender nuevamente el embudo sin abrir al llave *e*, y se hace salir por *c* la mayor parte del mercurio; la solución acuosa contenida en *d* se hace pasar a la pipeta y, levantando el embudo a la posición 1, se expulsa del aparato (por *a*) la solución acuosa con un poco de mercurio; entonces se puede proceder a una nueva determinación.

Es necesario tener en cuenta algunas correcciones: citemos las más importantes, las que se refieren a la presión y a la temperatura. Hecha la lectura de la cantidad (en centésimas de cc.) de CO_2 desarrollado, podemos contentarnos en las investigaciones clínicas ordinarias con una corrección aproximada para la presión y la temperatura; de la cifra leída se resta 0,12 y el valor obtenido corresponde aproximadamente a la capacidad de la sangre para fijar el CO_2. Así, si se ha leído (en la graduación del aparato) 0,57, esto es, si 1 cc. de sangre desprende 0,57 cc. de CO_2 a la presión y a la temperatura del laboratorio, se hace la corrección aproximada restando la citada cantidad, y se dice que la sangre ha desarrollado 0,45 cc. de CO_2 por centímetro cúbico, a presión y temperatura *normales* (760 mm. de Hg y 0°), o sea un 45 %. Esto se expresa también diciendo que el poder de fijación o capacidad de la sangre para el CO_2 es de 45 %.

Pero, si queremos trabajar con más exactitud, es necesario hacer una lectura de la temperatura y de la presión barométrica en el momento de la determinación, y hacer la corrección precisa por medio del siguiente cálculo: sea *p* la presión encontrada y *t* la temperatura. Si el volumen de CO_2 leído es *v*, a la presión *p*, el volumen *x* a la presión de 760 mm. se encontrará por medio de la siguiente ecuación (ya que la presión y el volumen están en razón inversa):

$$v \times p = 760 \times x; \quad \text{de donde} \quad x = \frac{v \times p}{760}.$$

Así, si se ha leído un volumen de 0,70 y el barómetro señala 750 mm., tendremos que el volumen reducido a 760 mm. será igual a:

$$\frac{0{,}70 \times 750}{760} = 0{,}69.$$

Luego se hace la reducción para la temperatura, sirviéndose de la tabla de la página siguiente, establecida para temperaturas del laboratorio entre 15° y 30° (intervalos de 5° en 5°; para las intermedias, tomar la más aproximada).

Las cifras más bajas para el individuo normal en reposo son (después de hecha la corrección de la presión y de la temperatura) de 77 a 53 cc. de CO_2 por 100 cc. de plasma. Las cifras de 53-40 indican una ligera acidosis, que es discreta para valores por debajo de 40 y gravísima si desciende a menos de 30 (esto es, cuando el plasma fija menos de 30 cc. de CO_2 en forma de bicarbonato).

Tabla de corrección para la presión y temperatura de los valores volumétricos de CO_2 leídos en el aparato de V. SLYKE *para la determinación del CO_2 capaz de ser fijado por el plasma.*

v = volumen de CO_2 leído en el aparato; p = altura barométrica

$\frac{v \times p}{760}$	Temperatura del laboratorio			
	15°	20°	25°	30°
0,20	9,1	9,9	10,7	11,8
0,21	10,1	10,9	11,7	12,6
0,22	11	11,8	12,6	13,5
0,23	12	12,8	13,6	14,3
0,24	13	13,7	14,5	15,2
0,25	13,9	14,7	15,5	16,1
0,26	14,9	15,7	16,4	17,0
0,27	15,9	16,6	17,4	18,0
0,28	16,8	17,6	18,3	18,9
0,29	17,8	18,5	19,2	19,8
0,30	18,8	19,5	20,2	20,8
0,31	19,7	20,4	21,1	21,7
0,32	20,7	21,4	22,1	22,6
0,33	21,7	22,3	23,0	23,5
0,34	22,6	23,3	24,0	24,5
0,35	23,6	24,2	24,9	25,4
0,36	24,6	25,2	25,8	26,3
0,37	25,5	26,2	26,8	27,3
0,38	26,5	27,1	27,7	28,2
0,39	27,5	28,1	28,7	29,1
0,40	28,4	29,0	29,6	30,0
0,41	29,4	30,0	30,5	31,0
0,42	30,3	30,9	31,5	31,9
0,43	31,3	31,9	32,4	32,8
0,44	32,3	32,8	33,4	33,8
0,45	33,2	33,8	34,3	34,7
0,46	34,2	34,7	35,3	35,6
0,47	35,2	35,7	36,2	36,5
0,48	36,1	36,6	37,2	37,4
0,49	37,1	37,6	38,1	38,4
0,50	38,1	38,5	39,0	39,3
0,51	39,1	39,5	40,0	40,3
0,52	40,0	40,4	40,9	41,2
0,53	41,0	41,4	41,9	42,1
0,54	42,0	42,4	42,8	43,0
0,55	42,9	43,3	43,8	43,9
0,56	43,9	44,3	44,7	44,9
0,57	44,9	45,3	45,7	45,8
0,58	45,8	46,2	46,6	46,7
0,59	46,8	47,1	47,5	47,6
0,60	47,7	48,1	48,5	48,6
0,61	48,7	49,0	49,4	49,5
0,62	49,7	50,0	50,4	50,4
0,63	50,7	51,0	51,3	51,4
0,64	51,6	51,9	52,2	52,3
0,65	52,6	52,8	53,2	53,2
0,66	53,6	53,8	54,1	54,1
0,67	54,5	54,8	55,1	55,1
0,68	55,5	55,7	56,0	56,0
0,69	56,5	56,7	57,0	56,9
0,70	57,4	57,6	57,9	57,9
0,71	58,4	58,6	58,9	58,8
0,72	59,4	59,5	59,8	59,7
0,73	60,3	60,5	60,7	60,6

$\frac{v \times p}{760}$	Temperatura del laboratorio			
	15°	20°	25°	30°
0,74	61,3	61,4	61,7	61,6
0,75	62,3	62,4	62,6	62,5
0,76	63,2	63,3	63,6	63,4
0,77	64,2	64,3	64,5	64,3
0,78	65,2	65,3	65,5	65,3
0,79	66,1	66,2	66,4	66,2
0,80	67,1	67,2	67,3	67,1
0,81	68,1	68,3	68,3	68,0
0,82	69,0	69,1	69,2	69,0
0,83	70,0	70,0	70,2	69,9
0,84	71,0	71,0	71,1	70,8
0,85	71,9	72,0	72,1	71,8
0,86	72,9	72,9	73,0	72,7
0,87	73,9	73,9	74,0	73,6
0,88	74,8	74,8	74,9	74,5
0,89	75,8	75,8	75,8	75,4
0,90	76,8	76,7	76,8	76,4
0,91	77,8	77,7	77,7	77,3
0,92	78,7	78,6	78,7	78,2
0,93	79,7	79,6	79,6	79,2
0,94	80,7	80,5	80,6	80,1
0,95	81,6	81,5	81,5	81,0
0,96	82,6	82,5	82,4	82,0
0,97	83,6	83,4	83,4	82,9
0,98	84,5	84,4	84,3	83,8
0,99	85,5	85,3	85,2	84,8
1,00	86,5	86,2	86,2	85,7

ÍNDICE ALFABÉTICO

Absorción intestinal, 340.
Acapnia, 466.
Acción anticoagulante de la peptona, 408.
— calciofijadora de la luz, 539.
— dinámica específica de la alimentación, 261.
— — — de las grasas, 702.
— — de los hidratos de carbono, 701.
— local de la luz, 538.
— de los metales coloidales, 441.
— oligodinámica, 125.
— simpáticomimética, 185.
Acciones fotodinámicas, 539.
Aceites, 73.
Aceptador del hidrógeno, 518.
Acetaldehido, 565.
Acetilenneurina, 188.
Acetona, 603.
Acetonemia, 604.
Acidalbúminas, 129.
Acidez total del contenido gástrico, 318.
Ácido acetacético, 565, 603.
— alcaptónico, 625.
— aspártico, 623.
— asparragínico, 98.
— benzoico, 600.
— cárnico, 131.
— cerótico, 72.
— cetosuccínico, 623.
— ciánico, 634.
— clorhídrico del jugo gástrico, 316.
— colálico, 81, 333.
— colánico, 81.
— coleico, 81.
— coleínico, 333.
— condroitinsulfúrico, 67, 385.
— desoxicolálico, 333.
— desoxicólico, 81.
— diaminotrioxidodecanoico, 98.
— elaidínico, 70.
— esteárico, 70.
— fenilacético, 600.
— fumárico, 524.
Ácido gadoleínico, 73.
— glicocoleico, 81.
— glicocólico, 81.
— glucónico, 48.
— glucurónico, 48, 67, 588, 755.
— glutámico, 624.
— glutamínico, 98.
— guanílico, 177.
— hemático, 157, 161.
— hidantoínico, 194.
— hipúrico, 211, 394, 755.
— homogentisínico, 212.
— indolacético, 205, 208.
— indolacetúrico, 205.
— indolpropiónico, 208.
— inosínico, 178.
— láctico, 669.
— lignoglicerínico, 84, 85.
— linoleico, 71.
— linólico, 71.
— litocolálico, 333.
— litocólico, 81.
— málico, 524.
— múcico, 48.
— mucoidinsulfúrico, 67.
— mucónico, 643.
— nucleínico, 165.
— oleico, 70.
— ornitúrico, 189.
— oxálico, 643, 755.
— β-oxibutírico, 565, 603.
— oxiglutámico, 99.
— palmítico, 70.
— pirúvico, 64, 525, 564, 623.
— pirrolidincarbónico, 102.
— psílico, 72.
— quinurénico, 200.
— sacárico, 48.
— succínico, 602.
— taurocoleico, 81.
— taurocólico, 81.
— timínico, 179.
— tuherculínico, 178.
— úrico, 170, 648.
— úrico. Estado coloidal del, 174.

Ácido úrico. Forma actámical, 172.
— — — lactímica, 172.
Ácidos, 70.
— aminados, 87.
— biliares, 81.
— grasos volátiles, 755.
— húmicos, 106.
— oxiproteínicos, 131.
Acidosis, 464, 605.
— compensadas, 466.
Acolia intestinal, 345.
Acroleína, 75.
Actividad óptica, 42.
Actividades vitales del epitelio respiratorio, 418.
Adenina, 170, 648.
Adiposis celular, 596.
Adrenalina, 200, 202, 497, 620, 685, 712.
Adsorción, 26.
Agmatina, 189.
Aire alveolar cerrado, 419.
Alanina, 95.
Alantoína, 170, 176.
Albúmina de Bence-Jones, 142.
Albúminas, 139, 140.
Albuminoides, 142.
— Influencia de las sales sobre los, 121.
Albuminómetro de Esbach, 781.
Albumosas, 129.
Albumosuria, 628, 762.
Alcalialbúminas, 129.
Alcaloides, 182.
Alcalosis, 632.
Alcanolaminas, 186.
Alcaptonuria, 212, 625.
Alcohol en la alimentación, 265.
— cetílico, 72.
— indoletílico, 205.
— miricico, 72.
— octadecílico, 72.
— psílico, 72.
Alcoholoxidasas, 523.
Aldeasas, 523.
Aldehido acético, 64, 65, 595.
— fórmico, 553.
— furánico, 50.
— glicérico, 49, 563.
— glicólico, 49.
— β-oxibutírico, 595.
Aldehidomutasas, 65, 238, 522.
Aldosas, 47.
Alergía no específica, 443.
Alimentos, 246.
— dinamógenos, 246.
— irradiados, 290.
— plásticos, 246.
Alquilaminas, 185.
Alteraciones fundamentales de la digestión intestinal, 345.
Amicrones, 19.
Amidas, 98.
Amilasas, 60, 321, 402, 554.
Amilopsina, 329.
Amilosas, 60.
Aminas, 181, 643.
Aminas biógenas, 181.
Aminoácidos, 86.
— cetógenos, 622.
— glucogenéticos, 623.
— en la sangre, 392.
Aminoazúcares, 66.
Aminopurinas, 648.
Amoníaco, 394.
Anafilaxia, 432.
— alimenticia, 347.
Anafilotoxina, 432.
Anillo betaínico, 198.
— pirrólico, 100.
Animales de tipo cobayo, 422.
Aniones, 11.
Anticuerpos, 422.
Antifermentos, 233, 357.
Antígeno incompleto, 423.
Antígenos, 421.
— heterogenéticos de Forssman, 422.
Antipeptonas, 130.
Antípodas ópticos, 43.
Aparato de Krogh, 691.
— retículo endotelial, 335.
Aporregmas, 182.
Arabinosa, 50.
Arginasas, 191, 331.
Arginina, 97, 189, 190, 619, 624, 627.
Asimetría molecular, 42.
Asparragina, 98.
Atrepsia, 709.
Autointoxicación intestinal, 183.
Avitaminosis, 285.
Ayuno absoluto, 705.
Azoemia, 732.
Azúcar de caña, 57.
Azúcares cíclicos, 67.
Azufre, 669.
— ácido, 642.
— neutro, 642.
Azul de índigo, 209.

Bacterias del intestino del hombre, 348.
Bacteriófago, 239.
Banda de Stokes, 149.
Bases hexónicas, 97, 102, 183.
— púricas, 168.
Beriberi, 284.
Betaínas, 184, 197.
Bilinógeno, 161, 740.
Biliprasina, 160.
Bilipurpurina, 161.
Bilirrubina, 159, 334.
Bilirrubinemia, 386.
Bilis, 331.
Biliverdina, 160.
Bíos, 294.
Biuret, 112, 206.
Blastina, 302.
Bufotalina, 82.
Butilamina, 185.

Cadaverina, 188.
Cafeína, 176.
Calamina, 186.
Cálculos biliares, 337.

Cálculos de colesterina y cal, 339.
— — — pura, 339.
— mixtos, 340.
— primarios, 765.
— secundarios, 764.
Calculosis úrica, 767.
Caldo de carne, 308.
Caloría grande, 250.
Calorías brutas, 255.
— netas, 255.
Carateno, 81.
Carbamato amónico, 630.
Carbamida, 205.
Carbaubón, 85.
Carbonato amónico, 630.
Carbonatos, 764.
Carbodioxihemoglobina, 153.
Carboxihemoglobina, 149, 152.
Carboxilasa, 63, 239.
Cariógeno de Miescher, 167.
Carnitina, 199.
Carne. Caldo de, 308.
— Cocción de la, 308.
Carnosina, 668.
Carnotina, 668.
Carotina, 81.
Caseína, 145.
Caseinógeno, 145.
Caseum, 145.
Catalasas, 528.
Catálisis, 220.
— por adsorción, 33, 222.
— en medio heterogéneo, 229.
Catalizadores, 220.
Cationes, 11.
Cefalinas, 84.
Células de Rouget, 196.
Celulosa. Digestión de la, 343.
Ceras, 69, 72.
Cerebrina, 85.
Cerebrósico, 85.
Cerebrósidos, 85.
Cetosas, 47.
Cetosis, 604.
Cianamina, 192.
Cianhemoglobina, 153.
Ciclo de Meyerhof, 568, 586.
Cilindros urinarios, 762.
Ciprinina, 140.
Cisteína, 99, 619.
Cistina, 99, 619, 627.
Cistinuria, 212, 627, 766.
Citosina, 169.
Citozima, 404.
Clorhidrato de hematina, 155.
Clorofila, 158.
Clorohemina, 155.
Clupanodónico, 73.
Clupeína, 140.
Coagulación de la sangre, 402.
Cocción de la carne, 308.
Cociente de energía, 271.
— proteico, 760.
— respiratorio, 253.
Coeficiente creatinínico, 638.
Cofermentos, 63, 232.
Colágeno, 143.
Colalemia, 333.
Colamina, 83.
Colano, 81.
Colecianina, 160.
Colehematina, 161.
Coleprasina, 160.
Colestano, 80.
Colesterina, 69, 78, 335, 397.
— endógena, 336.
— exógena, 336.
— pura, 340.
Coletelina, 160.
Cólico, 81.
Colina, 83, 186.
Coloides, 17, 36.
— electronegativos, 23.
— electropositivos, 24.
— hidrófilos, 34.
— hidrófobos, 34.
— suspensoides, 33.
Coloidoterapia, 440.
Combinaciones de adsorción, 28.
Comida de prueba, 319.
Complemento, 420.
Componentes minerales del régimen alimenticio, 274.
Compuestos, 41.
— heterocíclicos, 42.
— racémicos, 43.
Concentración superficial, 27.
Condroitina, 67.
Condromucoide, 180.
Condrosamina, 66, 179, 186.
Condrosina, 67.
Conductibilidad eléctrica, 12.
— límite, 470.
Consumo de lujo, 708.
Conquiolina, 144.
Constante dieléctrica, 369.
— de disociación de las proteínas, 117.
— de equilibrio, 223.
— de repartición, 30.
Coprosterina, 80.
Coriomucoide, 180.
Creatina, 190, 191, 394, 620, 635, 668.
Creatinina, 191, 394, 476, 635.
— Reacciones, 193.
Creatinógeno, 638.
Creatinuria, 639.
Crisis hemoclásica, 385, 409, 442.
Crisol de Gooch, 804.
Cristales de ácido úrico, 763.
— de oxalato de calcio, 763.
— de Teichmann, 155.
Cristalina, 142.
Cromoproteidos, 139, 146.
Cruorina, 84.
Cuerpos acetónicos, 602.
— fenólicos, 643.
— húmicos, 106.
Cuota de desgaste, 258.
— proteica de desgaste, 618.
Cura de Karell, 311.
Curva glucémica, 395.

Déficit de la secreción pancreática, 346.
Degeneración grasienta, 596.

Dehidrasa, 519.
Derivados imidazólicos, 194.
Deshidrogenasas, 238, 519.
Desmolisis, 323.
Desnaturalización mecánica de las proteínas, 135.
Diabetes, 712.
— insípida, 734.
Diálisis, 20.
— por compensación, 470.
Diaminas, 188.
Diaminuria, 189, 627.
Diazorreacción de Ehrlich, 160, 197, 217, 744.
Difusión, 8.
Digestión gástrica, 316.
— intestinal, 340.
Dimetilguanidina, 476, 641.
Dioxiacetona, 49, 563.
Dioxifenilalanina, 620.
Disacáridos, 57.
Disionia en el raquitismo, 289.
Disnea hematógena, 467.
Disociación electrolítica, 11.
— — de las proteínas, 116.
— hidrolítica, 17.
Dispersoide, 18.
Diszooamilia, 572.
Diuresis molecular, 726.
Dopa, 201, 214.
Dextrinasas, 60.
Dextrosa, 47.

Edema del hambre, 501.
— inflamatorio, 501.
Edemas, 497.
— caquécticos, 498.
— por estasis, 498.
— nefríticos, 498.
Elastina, 144, 190.
Electrólitos, 11.
— anfóteros, 88, 115.
Embudo de Buchner, 788.
Emulsiones, 33.
Energía superficial, 21.
Enfermedad de Addison, 712.
— de Basedow, 711.
Enfermedades por carencia, 285, 305.
Enranciamiento, 74.
Enteroquinasa, 327.
Enzimas, 219.
Equilibrio de Donnan, 38.
— nitrogenado, 549.
Erepsina, 330.
Ergosterina. 291.
Escatol, 207.
Escatoxilo, 208.
Escilita, 68.
Escleroproteínas, 139, 142.
Escorbuto, 296.
Esfingogalactósidos, 85.
Esfingomielina, 84.
Esfingosina, 84, 85, 186.
Espermina, 190.
Espongina, 144.
Espongosterina, 80.
Estabilizadores, 133.
Estalagmomas, 490.
Estalagmonas urinarios, 628.
Estercobilina, 161, 351.
Esterinas, 78.
Estereoisómeros, 43.
Estímulos cutáneos en el metabolismo, 712.
Estomosinas, 302.
Estreñimiento por hiperpepsia, 344.
Estructura del glóbulo rojo, 367.
Esturina, 140.
Etilamima, 185.
Etioporfirina, 157, 158.
Euglobulina, 141, 380.

Factor de viscosidad, 483.
Factores dietéticos accesorios, 285.
Fagopirismo, 542.
Fase continua, 18.
— dispersa, 18.
Fases, 18.
Fenilalanina, 100, 200.
Fenilalcanolaminas, 200.
Fenilalquilaminas, 200.
Feniletilamina, 200.
Fenómeno de D'Herelle, 235.
— de Tyndall, 18, 115.
Fenómenos anabólicos, 245.
— catabólicos, 245.
Fermentación, 61, 65.
— alcohólica, 62.
— butírica, 65.
— intestinal, 348.
Fermento-lab, 321.
Fermentos, 219.
— Clasificación de los, 237.
— defensivos, 356, 402.
— Formación de los, 235.
— organizados, 219.
— solubles, 219.
Fibrina, 377.
Fibringlobulina, 141.
Fibrinógeno, 141, 377, 380.
Fibroína, 144.
Fiebre, 717.
— anafiláctica, 719.
— del frío, 715.
— por los productos de escisión proteica, 719.
— de la sal, 702, 718, 719.
— β-tetrahidronaftilamina, 718.
Filoeritrina, 161.
Fitina, 68.
Fosfátidos, 82.
Fosfatos alcalino-térreos, 764.
— alcalinos, 764.
— térreos, 764.
Fosfaturia, 764.
Fosfoproteidos, 139.
Fosfoproteínas, 138, 145.
Fósforo, 669.
Forma lactámica del ácido úrico, 658.
— lactímica del ácido úrico, 658.
Formaldehido, 49.
Fotosensibilizadores, 156, 539.
Frenosínico, 85.
Fructosa, 47, 51.

Fumarasa, 524.
Función excretora invertida, 731.
— prerrenal, 731.
— proteopéxica del hígado, 279.
Funciones químicas del hígado, 679.
Furano, 50.
Furfurol, 50.

Galactosa, 47, 51.
Gastrinas, 322.
Gel, 18.
Gelatina, 143.
— de Warton, 180.
Glándulas de secreción interna, 711.
Glicéridos, 69.
Glicerina, 65.
Glicilglicina, 89.
Glicocola, 95, 194, 333, 627.
Glioxal, 64.
Glioxalasa de Neuberg y Dakin, 65.
Glioxilasa, 238.
Globina, 140, 147.
Globulinas, 139, 141.
Glucal, 169.
Glucógeno, 60.
Glucoproteidos, 139, 179.
Glucosa, 47, 394, 755.
— en la orina, 756.
Glucosamina, 51, 66, 67, 186.
Glucósidos, 56.
Glucosuria, 571.
— en el embarazo, 587.
— floridcínica, 555.
Glutamina, 99.
Glutationa, 212.
Glutelinas, 139.
Gorgonina, 144.
Gota, 656.
Gránulos respirantes de Warburg, 368.
Grasas, 69.
— Absorción de las, 341.
— neutras, 73.
Grupo prostético, 138.
Guanidina, 97, 105, 190, 193, 473, 641.
Guanina, 170, 648.
Guanosina, 177.

Harmozonas, 682.
Hematíes, 374.
Hematina, 147, 155.
Hematógeno, 146.
Hematoidina, 160.
Hematoporfirina, 155, 156, 158, 541, 742.
Hematoporfirinemia, 542.
Hematuria, 740.
Hemibilirrubina, 161.
Heminas, 155.
Hemocianina, 162.
Hemoconias, 397.
Hemocromógeno, 147.
Hemofilia, 403, 410.
Hemoglobina, 146, 414.
Hemoglobinemia, 148, 386.
Hemoglobinuria, 740.
Hemolisis, 124, 147, 367.
Hemolisis fotodinámica, 540.
Hemopirrol, 157.
Hemoporfirina, 156.
Hemosiderina, 160.
Hemosiderosis, 338.
Hexahidrobenceno, 68.
Hexónicas. Bases, 183.
Hexosas, 51.
Hidantoína, 194.
Hidramina, 184.
Hidraturias, 588, 756.
Hidrazonas, 54.
Hidrofurano, 50.
Hidrolisis, 17.
— por membrana, 39, 321.
Hiperinosis, 411, 488.
Hiperuricemia, 656.
Hipocapnia, 464.
Hipocoprosterina, 80.
Hiponosis, 411.
Hiponutrición, 706.
Hipostenuria renal, 726.
Hipoxantina, 170.
Histamina, 183, 194.
— Acción tóxica de la, 195.
Histidina, 102, 183, 194, 619.
Histonas, 139, 140.
Hormonas, 182, 681.

Ictulina, 146.
Imbibición, 36.
— de los coloides, 482.
Indicadores, 774.
Indice de carbonato, 465.
— de hidrógeno, 15.
— de oro, 508, 768.
— de yodo, 76.
Indirrubina, 209.
Indol, 207.
Indoletilamina, 204, 208.
Indoxilo, 208.
Infiltración grasosa, 596.
Influencia de las bajas temperaturas, 481.
— del trabajo muscular, 702.
Influencias hormónicas en la función renal, 732.
Inosita, 178.
Insulina, 577.
Intoxicación cárnea, 631.
— proteica, 181.
Inulina, 60.
Inversión, 59.
Invertasas, 59, 330.
Investigación de la acetona, 608.
— del ácido acetacético, 609.
— del ácido β-oxibutírico, 610.
— de la sangre en las heces, 354.
Iones, 11.
Ionización, 11.
Ionoscopio, 749.
Irreversibles, 36.
Isatina, 209.
Isocíclicos, 41.
Isocolesterina, 80.
Isoleucina, 96.

Isotonía del medio celular, 449.

Jabones, 75.
Jugo intestinal, 329.
— pancreático, 325.

Lactacidógeno, 57, 672.
Lactalbúmina, 141.
Láctica, 65.
Lactoglobulina, 142.
Lactosa, 57, 327, 330.
Lactosuria, 588.
Lanolina, 72, 80.
Lecitinas, 83, 84.
Lecitinasas, 599.
Leche, 266.
Leucina, 96.
Leucocitos, 372.
Levaduras, 62.
Levulosa, 47.
Levulosuria, 588.
Ley de Arndt-Schultz, 442.
— de Avogadro, 8.
— de Boyle y Mariotte, 8.
— del equilibrio nitrogenado, 618.
— de los gases de Henry, 30.
— de Gay-Lussac, 8.
— de Henry, 151, 411.
— de la isodinamia, 251.
— de las masas de Guldberg y Waage, 220.
— del mínimo, 251.
— — de los aminoácidos, 282.
— de Pflüger, 693.
— de la repartición, 30.
— de Van't Hoff, 479, 721.
Linfa, 449, 491.
Linfagogos, 495.
Lipasa, 330.
— gástrica, 321.
Lipemia, 399.
— digestiva, 598.
Lipinas, 69.
Lipocromos, 74, 81.
Lipoides, 69, 78.
Lipofanerosis, 596.
Lipofuscinas, 213.
Líquido amniótico, 510.
— de Barfoed, 58.
— céfalo-raquídeo, 504.
— de Ringer, 472.
— de Tyrode, 473.
Lisina, 97, 620, 627.
Litiasis urinaria, 765.
Luteína, 81, 400.

Maidismo, 300.
Mal de montaña, 710.
Maltasas, 60, 329, 402.
Maltosa, 57.
Manosa, 51.
Mecanismo de acción de la insulina, 583.
— de la secreción renal, 727.
Medios de osmorregulación, 451.
Melaninas articiales, 106.
— naturales, 213.
Membranas, 358.
Membranas. Estructura de las, 366.
— de precipitación, 359.
— semipermeables, 9, 359.
Membranina, 144.
Mesobilirrubina, 161,
Mesobilirrubinógeno, 161, 740.
Mesoporfirina, 156.
Metabolismo basal, 258.
— del bazo, 680.
— de conservación, 692.
— endógeno, 617.
— energético total, 687.
— exógeno, 617.
— muscular, 670.
— proteico en la fiebre, 723.
Metahemoglobina, 147, 153.
Metahemoglobinemia, 148.
Metilaminas, 185.
Metilglioxal, 63, 557, 567.
Metilglucósido, 56.
Metilguanidina, 190, 668.
Método de Cole, 757.
— de H. van den Bergh, 389.
— de Schif-Sörensen, 93.
— de Kossel-Neumann, 168.
Métodos calorimétricos, 688.
— colorímetricos, 773.
— nefelométricos, 773.
Micelas, 20.
Micrones, 19.
Mielinas, 82, 84.
Miogenfibrina, 142, 667.
Miógeno, 142, 667.
Mioquinina, 198.
Miosina, 142, 667.
Miosinfibrina, 142, 667.
Mol, 10.
Molécula-biógena, 1.
Mononucleótidos, 177.
Monosacáridos, 47.
Movimiento browniano, 20.
Mucina, 179.
Mucoides, 180.
Multirrotación, 52.
Muscarina, 187.

Nacimiento coloidal, 175.
Nem, 272.
Neurinas, 188.
Neuroqueratina, 144, 663.
Nitrógeno residual, 390.
Novaína, 199.
Nucleacidasas, 646.
Nucleasas, 168.
Nucleína, 167.
Núcleo del benceno, 100.
— del imidazol, 100.
— del indol, 100.
Núcleoacidasas, 168.
Núcleoproteídos, 139, 165.
Nucleósidos, 177.
Núcleotidasas, 646.
Nucleótido, 177.
Número de acidez, 77.
— de hidrógeno, 15.
— de Reichert-Meissl, 77.
— de yodo, 75.

Obesidad, 611.
— endógena, 709, 712.
Ocronosis, 626.
Oligodinámica. Acción, 125.
Onda de alcalinidad urinaria, 747.
Opalisina, 267.
Opteno, 423.
Orina. Avidez iónica de la, 748.
— Cantidad de, 736.
— Cloruro sódico en la, 749.
— Color de la, 736.
— Fosfatos de la, 750.
— Investigación del azúcar en una, 756.
— Peso específico de la, 736.
— Sales de la, 749.
— Sulfatos de la, 749.
Origen de los anticuerpos, 428.
Ornitina, 96.
Osazonas, 55.
Osmómetro, 9.
Osteomucoide, 180.
Ovoalbúmina, 179.
Ovoglobulina, 142.
Ovomucoide, 181.
Oxaluria, 643, 766.
Oxicolesterina, 81.
Oxidasas, 239.
— de los leucocitos, 374.
Oxidofermentaciones, 66.
Oxigenasas, 513.
Oxihemocianina, 164.
Oxihemoglobina, 147.
— Curva de disociación de la, 150.
Oximetilfurfurol, 53.
Oxiprolina, 102, 620.
Oxitirosina, 201.

Parahemoglobinemia, 386.
Paramucina, 180.
Paratiroides, 683.
Pelagra, 306.
Pentosas, 50.
Pentósidos, 56.
Pentosuria, 589.
Pepsina, 316.
Péptidos, 89.
Peptizadores, 300.
Peptonas, 129.
Peptonuria, 762.
Peroxidasas, 513.
Peróxido de hemocromógeno, 150.
Peso molecular de las proteínas, 87.
Pigmentos biliares, 159, 334, 742.
— respiratorios, 146.
Pirimidinas, 169.
Pituitrina, 197, 497.
Pleiocromía, 334.
Poder rotatorio, 42.
Polisacáridos, 59.
Porción ionógena, 23.
Porfirinuria, 742.
Precipitación rítmica, 127.
Presión de imbibición, 37.
— interna, 8.
— osmótica, 8.
— — de los coloides, 729.
Profermento, 232.
Prolina, 102, 620.
Protagon, 85.
Protaminas, 139.
Proteídos, 138.
Proteína neutra, 117.
Proteínas, 86.
— Clasificación de las, 138.
— conjugadas, 138.
— Constante de disociación de las, 117.
— cristalizables, 129.
— Desnaturalización mecánica de las, 135.
— desnaturalizadas, 117.
— Disociación electrolítica de las, 116.
— ionizadas, 117.
— del plasma, 379.
— Punto de coagulación de las, 126.
— — isoeléctrico de las, 119.
— Reacciones de precipitación de las, 129.
— simples, 138.
Protein-iones, 115.
Proteinoides, 142.
Proteinoterapia, 440.
Proteinuria de Bence-Jones, 628, 760.
Protonas, 140.
Protoplasma. Activación del, 444.
Prueba de Almen-Schönbein, 744.
— de la fermentación según Schmidt, 351.
— de Gerhardt, 609.
— de Gmelin, 160, 742.
— de la glucosuria provocada, 573.
— de Heller, 743.
— de Huppert-Salkowski, 743.
— de Moore, 53.
Pruebas de los núcleos de Schmidt, 342.
— de Nylaender, 758.
— del sublimado de Schmidt, 351.
Pseudoglobulina, 141, 380.
Pseudomucina, 180.
Ptialina, 315.
Ptomainas, 182.
Punto de coagulación del suero, 385.
— isoeléctrico de las proteínas, 119.
Purinas, 170.
— metiladas, 176.
Púrpuras, 410.
Putrefacción intestinal, 348.
Putrescina, 188.

Queratinas, 144.
Quilo, 495.
Quinasas, 232, 302.
Quinurénico. Acido, 207.
Quirinas de Siegfried, 105, 130.
Quitina, 66.
Quitosamina, 66, 179.

Raquitismo, 475, 478.
Reacción actual de la sangre, 460.
— de Adamkiewicz, 113.
— del azul de Prusia de Kirchberg, 509.

Reacción de la bencidina, 354.
— de Bial, 54.
— del biuret, 112.
— cárnea de Arnold, 745.
— del colargol, 509.
— de la congurrubina de Luers, 509.
— desmoide, 317.
— de Ehrlich, 741.
— de Florence, 187.
— de la floroglucina, 53.
— del guayaco, 354.
— de Gunning, 608.
— de Hay, 334.
— de Hopkins-Cole, 113.
— del indicán, 209, 739.
— interna de Cannizzaro, 65, 238, 522, 529, 557, 567.
— de Legal, 609.
— de Lieben, 609.
— de Liebermann-Bouchard, 79, 113.
— de Lindemann, 610.
— del mástic de Emanuel, 509.
— de Meyerhofer, 507.
— de Millon, 112.
— de Molisch, 106, 114, 334.
— de Mörner, 101.
— de Mörner-Bondi-Schwarz, 610.
— de la murexida, 175.
— de Neubauer y Rhode, 114.
— de Neuberg, 79.
— de la ninhidrina, 114.
— del nitrosoindol, 210.
— de Noguchi, 506.
— de Ondrejowitch, 610.
— de la orceína, 53.
— de la orina, 746.
— del oro coloidal de Lange, 508.
— de las oxidasas, 514.
— de Pandy, 506.
— de Pettenkofer, 79, 113, 333.
— de Piria, 101.
— de la resina de benjuí, 509.
— de Rivalta, 503.
— roja de Ehrlich, 162.
— roja del furfurol, 53.
— de Rosenbach, 209.
— de Sabatini, 160.
— de Salkowski, 79.
— de la sangre, 456.
— de Schardinger, 520.
— de Schiff, 175.
— de Seliwanof, 47.
— de Strecker, 527, 622.
— de Thormaehlen, 217, 745.
— de Tollens y Rovire, 589.
— del triptófano, 113.
— de Trommer, 756.
— de la urorroseína, 205, 738.
— de Wassermann, 433.
— de Weichbrodt, 506.
— de M. Weiss, 737.
— xantoproteica, 112.
Reacciones acopladas, 239.
— de las globulinas 505.
— de precipitación, 115, 437.
— — de las pretoínas, 129.
Reacciones reversibles, 224.
— de la urobilina, 162.
— zonales, 28.
Reactivo de Gunzburg, 319.
— de Millon, 101.
— de Spiegler, 759.
— de Uffelmann, 323.
Receptores de hidrógeno, 64.
Refractometría, 481.
Regla de Hardy, 24.
— de Schulze, 25.
— de Van't Hoff, 220.
Regulación química de la respiración, 463.
Relación azoúrica, 752.
— gluconitrógenoúrica, 556.
Reserva alcalina, 460, 464.
Resistencia osmótica de los hematíes, 375.
Respiración interna, 419.
Reversibles, 36.
Ribosa, 50.
Rigidez cadavérica, 675.
Rojo de escatol, 739.

Sacarosa, 57.
Salamandrina, 207.
Salazón, 35.
Sales, 401.
— amortiguadoras, 459.
— biliares, 333.
Saliva, 314.
— simpática, 315.
Salmina, 140.
Saponificación, 75.
— Indice de, 77.
Saponina, 81.
Sapotoxinas-animales, 81.
Sorcosina, 192.
Sarquina, 172.
Secretina, 325.
Secretinas gástricas, 322.
Serie electroquímica, 26.
Series de Hofmeister, 26, 121.
— liotropas, 121.
Serina, 96.
Seroalbúmina, 141, 380.
Seroglobulinas, 141, 380.
Seromucoide, 181, 380.
Serozima, 404.
Siderosis, 160.
Síndrome de compresión de Nonne, 504.
Sintonina, 142, 317.
Sol, 18.
Solubilidad. Mediadores de, 133.
Solución normal, 10.
Soluciones coloidades, 17.
— con dispersión iónica, 11,
— — molecular, 7.
Sorbita, 48.
Substancia amiloide, 181.
Substancias batotonas, 116.
— con límite, 728.
— extractivas nitrogenadas, 753.
— sin límite, 728.
Suero. Poder antitrípsico del, 233.

Sulfátidos, 85.
Sulfohemoglobina, 153.
Sulfolipinas, 85.

Taurina, 212, 333, 619.
Temperatura, 478.
Tensión de solubilidad, 8.
— superficial, 21, 484.
Teorema de Gibbs, 26.
Teoría de la activación del hidrógeno, 517.
— del agotamiento, 408.
— de las cadenas laterales de P. Erhlich, 428.
— dualista de la vida, 248.
— de la ictericia de Naunyn, 334.
— — rectículo-endotelial, 334.
— de la narcosis de Overton, 363.
— de Overton, 362.
Terapéutica adsorbente, 352.
Tetania, 290, 475.
— por los fosfatos, 402, 477.
— por hiperpnea, 469.
Tetrahidronaftilamina, 204.
Tetranucleótido, 178.
Timina, 169.
Tiramina, 183, 200.
Tireoglobulina, 142.
Tiroides, 683.
Tirosina, 101, 183, 200, 620.
Tiroxina, 210.
— de Kendall, 620.
Transformaciones tautoméricas, 52.
Triestearina, 73.
Triglicéridos, 73.
Trioleína, 73.
Tripalmitina, 73.
Tripsina, 326.
Triptófano, 102, 207, 620.
Trombina, 404.
Trombógeno, 404.
Tromboquinasa, 404.
Trombozima, 404.
Tropina, 186.
Tunicina, 60.

Ultrafiltros, 116.
Ultramicrones, 19.
Unidad de insulina, 581.
Uniones carboamínicas, 88.
Uracilo, 169.
Uratoistequia, 660.
Uratos amorfos, 763.
Urea, 97, 192, 194, 205, 392, 630, 668.
Ureasa, 206.
Ureidos, 206.
Urobilina, 161, 740, 741.
Urobilinógeno, 161.
Urobilinuria, 740.
Urocromo, 737.
Urocromógeno, 737.
Uroeritrina, 210, 738.
Uromelanina, 738.
Uronod, 736.
Urorroseina, 738.
Urotoxicidad, 754.

Vacunación intracutánea, 713.
Valencias accesorias, 9, 32, 71.
Valina, 95.
Valor calorífico medio, 690.
— — del oxígeno, 689.
Vasodilatina, 326.
Velocidad de sedimentación de los hematíes, 485.
Vida. Teoría dualista de la, 248.
Viscosidad, 482.
Vitaminas, 246, 284, 497.
— Clasificación de las, 299.
— Factor A, 286.
— — B, 292.
— — C, 296.
— — D, 294.
— — E, 287.
— — F, 292.
Vitelina, 146.

Xantina, 170.
Xantocromía, 504.
Xantofila, 81.
Xilosa, 50.

Yecorina, 85.
Yodotirina, 142.

Zimasa, 63, 239.
Zimasa de Buchner, 230.
Zimohexosas, 63.

ÍNDICE ALFABÉTICO DE AUTORES

Abderhalden, 86, 95, 96, 103, 110, 114, 280, 282, 286, 279, 293, 294, 295, 296, 356, 357, 381, 392, 401, 402, 587, 625, 626.
Abel, 302.
Abelin, 683, 701.
Ackermann, 185.
Ackrody, 619.
Achard, 499.
Adamkiewicz, 113.
Addison, 712.
Adler, 389, 717.
Adlersberg, 415.
Agazzotti, 441, 467.
Ahlgren, 585.
Albertoni, 331, 408, 590.
Albu, 275.
Allen, 397, 580, 682.
Almagiá, 658.
Almen, 744.
Alpern, 733, 734.
Altmann, 166.
Angeli, 106, 197, 214, 215, 217, 218, 745, 746.
Anitschkow, 399.
Aoyama, 340.
Argood-Ashand, 697.
Armstrong, 14.
Arndt, 442.
Arnold, 745, 777.
Arnstein, 798.
Aronson, 714.
Ascoli, 124, 285, 301, 383, 441, 485, 652.
Aschheim, 682.
Aschner, 455, 497, 733.
Aschoff, 128, 334, 335, 337, 338, 542.
Asher, 470, 683.
Atwater, 257, 258, 547, 549, 688.
Aub, 701.
Auerbach, 326.
Austin, 821.
Austrian, 648.
Authenrieth, 397, 817, 818.
Avery, 424.
Avogadro, 8.
Axenfeld, 508.
Azzi, 541, 629.

Bacmeister, 337, 338.
Bach, 513, 515, 517, 519, 530.
Baglioni, 307, 379.
Bahrdt, 709.
Baker, 390, 394.
Bang, 177, 390, 773, 806, 808.
Banti, 680.
Banting, 579, 581.
Banzhaf, 426.
Barbarcy, 400.
Barbour, 715.
Barcroft, 152, 413.
Barfoed, 58.
Barger, 182, 185, 201.
Barilari, 400.
Barlocco, 388.
Barr, 413, 468.
Basch, 468.
Basedow, 711.
Bass, 658.
Battelli, 523, 524, 530, 531.
Battistini, 577.
Bauer, 185, 497.
Bayliss, 225, 227, 229, 233, 325, 356, 364, 365, 480, 670, 672, 727, 728.
Beckmann, 749, 759.
Becher, 731.
Bechhold, 33, 124, 126, 128, 174, 175, 359, 367, 431, 489, 504, 537.
Belfanti, 425, 426, 440.
Bell, 822.
Bence-Jones, 142, 628, 760.
Benedict, 385, 393, 547, 576, 659, 688, 694, 695, 700, 704, 706, 709, 711, 787, 798, 801, 805, 809.
Bennet, 422.
Berg, 615.
Bergel, 105, 373.
Berger, 240, 382, 383, 427, 428.
Berglund, 651.
Bergmann, 613.

Berlin, 197.
Bernard, 324, 374, 554, 733.
Bernstein, 393, 695, 711.
Berthelot, 183, 195.
Bertkau, 490.
Bertrand, 183, 195, 228, 516, 803.
Bessau-Schmid, 661.
Besser, 662.
Best, 579, 580, 581.
Bethe, 366, 665.
Betz, 388.
Beumer, 336.
Beutner, 361.
Bezzola, 299.
Bial, 54.
Bickel, 300, 310, 320, 321, 322, 618.
Biderfeld, 509.
Bieling, 426, 429, 443, 754.
Bierry, 396.
Biltz, 28.
Bingold, 387.
Bishop, 292.
Bizzozzero, 405.
Blatherwick, 401.
Blau, 801.
Bloch, 101, 202, 214, 215, 509, 620.
Bloor, 397, 399, 400.
Boas, 354.
Boden, 174, 769.
Bock, 332, 388.
Boehme, 713.
Böhm, 187.
Bohr, 418.
Bokelmann, 465, 467.
Bondi, 610.
Borberg, 506.
Bordet, 405, 431.
Bornstein, 395, 555, 571, 572, 574, 615.
Borrino, 268.
Bössle, 473.
Bottazi, 116, 118, 148, 164, 257, 263, 271, 355, 379, 381, 447, 449, 450, 454, 455, 470, 666, 667, 680.
Bottomley, 301.
Bouchad, 79, 754.
Bowman, 727, 728.
Bowmuik, 501.
Boyle, 8.
Braddon, 284.
Bragg, 137.
Braun, 3, 436.
Breccia, 508.
Brehme, 352.
Briggs, 824.
Brinkmann, 361, 376.
Brown, 178.
Brugsch, 331, 346, 354, 455, 650, 652, 654, 660.
Brule, 397.
Bryant, 257.
Bubanovic, 376.
Budin, 272.
Buchner, 63, 219, 236, 429, 788.
Buglia, 280, 667, 668.
Bunge, 270, 273, 277, 401.
Bürger, 395, 562, 638, 640, 641, 650.
Buscaino, 85, 196, 572.
Buschke, 306.

Camis, 152.
Campbell, 472, 579, 697.
Camus, 733.
Cannata, 654.
Cannizzaro, 238, 522, 529, 557, 567.
Cannon, 340.
Cantone, 411.
Capparelli, 577, 578.
Carbone, 426.
Capenter, 700.
Cary, 401.
Carra, 408.
Castelli, 536.
Cathcart, 704.
Cattaneo, 476.
Cavazza, 596.
Centanni, 285, 299, 302, 304, 440, 441, 445.
Cervello, 187.
Cesana, 71.
Ciaccio, 597, 598.
Ciamician, 536.
Cicconardi, 629.
Cioffari, 569.
Citron, 718.
Clark, 16, 685, 827.
Clementi, A., 93, 330, 331, 624.
Coca, 425.
Cohen Tervaert, 638.
Cohnheim, 330, 498.
Cohnstein, 491.
Cole, 113, 757.
Collazo, 287.
Collip, 467, 579, 580, 581, 685.
Conti, 386.
Coppola, 284.
Coronedi, 497, 683.
Cosentino, 655.
Constantino, 375, 392, 666, 667, 668, 669, 672.
Cova, 399.
Cramer, 289.
Creveld, 361.
Crispolti, 591.
Cullen, 376, 392, 465, 781, 782, 791, 827.
Cushny, 727, 728, 729, 730, 731.
Chauffard, 336, 337, 399.
Chauveau, 558, 688, 697, 704.
Chick, 296, 298.
Chistoni, 495.
Chittenden, 262.
Chodat, 513.

D'Agata, 217.
D'Agostino, 118.
Dakin, 65, 90, 556, 558, 564, 566, 567, 599, 621, 624.
Dale, 111, 185, 195, 201, 202, 382, 496, 585.
D'Alise, 314.
Damm, 376.
Davidsohn, 316.
Davis, 274, 286, 392, 393, 634, 635.

Davy, 485.
Dawis, 659.
Dawson, 481.
De Boer, 638.
De Dominicis, 577.
Deetjen, 114.
De Filippi, 185.
D'Hérelle, 235, 240, 241.
Delauge, 405.
Delaunay, 379.
Delezenne, 4, 425.
Delf, 296.
De Michele, 388.
Deneke, 377.
Denis, 390, 391, 584, 628, 632, 636, 637, 641, 780, 794, 795, 814, 824.
Derick, 651.
De Vries, 360.
De Waard, 827.
Diamare, 578, 580.
Dietrich, 384.
Dixon, 202, 530.
Doerr, 136, 240, 382, 383, 384, 428, 431, 432.
Doisy, 682, 822.
Domagk, 668.
Dombrowski, 737.
Donleavy, 820.
Donnan, 38.
Dorfmüller, 650.
Douglas, 418.
Drechsel, 86, 631, 633.
Dresel, 386, 474, 572, 660.
Dresser, 449.
Dreyfus, 486.
Drummond, 191, 286, 287, 288.
Du Bois, 721.
Dubin, 293.
Ducceschi, 100, 106, 400.
Dudley, 90, 558, 567, 581, 582.
Dulong, 546.
Dungern, 165, 425.
Dupley, 566.
Durham, 218.
Dusser de Barenne, 638.
Dutcher, 295.
Dutto, 683.

Ebbecke, 496, 501, 754.
Eberth, 410.
Eckstein, 709.
Edelstein, 709.
Ehrenberg, 228, 240, 742.
Ehrentheil, 488.
Ehrlich, 32, 137, 151, 160, 162, 197, 217, 420, 424, 428, 429, 430, 431, 514, 741, 744.
Eicke, 507.
Eijkmann, 284, 292.
Einbeck, 526.
Einstein, 376.
Eisenberg, 430.
Eisler, 471.
Elek, 335.
Elías, 396, 477.
Elios, 474.
Ellinger, 453, 482, 509, 730, 739.
Ellis, 392.
Emanuel, 509.
Embden, 562, 563, 564, 566, 586, 604, 609, 623, 672, 673, 674.
Emmerich, 276, 668.
Emmett, 293.
Engel, 609.
Engeladn, 193.
Engelkes, 387.
Engelmann, 666.
Enriques, 447.
Eötvos, 13.
Eppinger, 386, 413, 482, 484, 497, 680, 746.
Epstein, 438.
Erb, 497.
Erbstein, 655.
Ernst, 335.
Esbach, 781.
Eskuchen, 505, 507, 508, 508.
Evans, 292.
Ewins, 205.
Exner, 338.

Fahraeus, 485, 486, 487, 488.
Falk, 696.
Falkenhausen, 331.
Falta, 361, 586, 685.
Fano, 408, 449, 540, 484.
Farmer, 779.
Fasola, 446.
Faust, 424, 425.
Fedeli, 124.
Fehling, 756, 758, 803.
Feigl, 397, 400.
Felix, 619, 620, 624.
Fellenberg, 662.
Fenyvessy, 427.
Ferranini, 737.
Feulgen, 169.
Feteryag, 582.
Fichera, 681.
Fiessinger, 374.
Findlay, 475.
Fine, 391, 394, 507, 637.
Fischer (E.), 49, 76, 89, 105, 110, 157, 170, 227, 257, 499, 500, 664, 742 762.
Fischler, 555, 573, 577, 606, 631, 632, 633, 679.
Fiske, 632, 748.
Fletcher, 262, 579.
Florence, 187.
Foá, 234, 316, 321, 402, 441, 646, 686.
Fodor, 587.
Folin, 176, 194, 324, 390, 391, 392. 609, 621, 628, 632, 635, 636, 637, 649, 651, 659, 773, 776, 777, 779, 780, 782, 786, 787, 789, 793, 794, 795, 796, 797, 799, 800, 801, 802, 810, 814.
Fonnio, 410.
Forssman, 422, 423.
Fort, 635.
Fraenkel, 114, 663.
Francioni, 654, 655.
Frank, 280, 469, 475, 587, 641, 733.

Fraser, 285.
Fredericq, 162.
Frei, 411.
Freidmann, 394.
Freudenberg, 289, 351, 402, 469, 475, 477, 478, 684.
Freund, 443, 444, 445, 685, 697, 715.
Freundlich, 29, 430, 519.
Freundweiler, 655.
Frey, 483.
Fridericia, 376, 462.
Friedberger, 432, 720.
Friedemann, 431, 484.
Fröhlich, 296.
Fuert, 745.
Fulci, 570.
Funck, 406.
Funke, 485.
Funk, 284, 285, 288, 293, 294, 296, 297, 298, 302, 304, 307, 397, 817, 818.
Furno, 469.
Fürth, 214, 335, 666, 667, 668, 675,
Furuhata, 427.

Gad-Andresen, 394.
Gaglio, 301.
Gaifami, 399.
Galassi, 299, 388.
Galeotti, 123, 422, 446, 447, 467, 470, 479, 536, 597, 629, 648, 665, 666, 725.
Gallerani, 217.
Gallois, 68.
Gamble, 614.
Gammeltoft, 467.
Garrod, 656, 742.
Gautier (A.), 3, 264.
Gay-Lussac, 8, 62, 448.
Gayda, 341, 480, 667.
Gaza, 494, 501.
Geelmuyden, 560, 574, 582, 584.
Geppert, 651.
Gerhardt, 609.
Gersner, 407.
Gettler, 390, 394, 793.
Gherardini, 394.
Gibson, 426.
Gibbs, 26.
Gigon, 700.
Gilbert, 388, 408.
Gildemeister, 240.
Gironcoli, 272.
Girone, 633.
Givens, 275, 649.
Glaessner, 324.
Glanzmann, 300, 301.
Gley, 340, 554, 682, 685.
Glough, 580.
Gmelin, 160, 742.
Goodmann, 335, 336.
Gooch, 804.
Goldberg, 76.
Goldmann, 469, 476.
Goldschmiedt, 589.
Goldwasser, 753.
Golowinski, 187.
Gonder, 536.
Goretti, 536.
Gortner, 106.
Gottlieb, 444, 445, 637, 686.
Gottschalk, 442, 474, 521, 565, 568, 585, 677, 678, 701.
Graeft, 514.
Grafe, 262, 486, 575, 615, 673, 692, 697, 701, 706, 707, 708, 709, 711, 712, 713, 715, 716, 723, 731.
Graham, 18, 20, 708.
Grant, 469, 476.
Greenwald, 477, 685, 782.
Greig, 501.
Greppi, 335, 388, 741.
Greving, 715.
Griesbach, 393, 672.
Grigaut, 79, 336, 399, 817.
Groerr, 538.
Gross, 637, 640.
Grossfeld, 662.
Grünbaum, 394, 755.
Grunwald, 277.
Gudzent, 173, 650, 657, 658, 659, 660.
Guerrini, 301, 445.
Guggenheim, 182, 183, 186, 199, 201, 202.
Guld, 404.
Guldberg, 220.
Gunning, 608, 777.
Günzburg, 319.
Gutman, 402.
György, 289, 290, 291, 392, 402, 469, 475, 476, 477, 478, 684.

Habbard, 607.
Haberlandt, 445.
Haffner, 540.
Haggard, 376, 462, 464, 466.
Hagner, 456.
Hahn, 427.
Haldane, 417, 418, 419, 463, 466.
Halpert, 458.
Hamburger, 287, 290, 339, 360, 376, 450, 453, 462, 483, 539.
Hammarsten, 179, 332.
Hammet, 391, 635.
Handowski, 123, 365.
Hanke, 183, 195.
Hansemann, 340.
Hansen, 538.
Happ, 302.
Harden, 297.
Harding, 635.
Hardy, 24.
Harkins, 71, 137.
Harpuder, 385, 651, 655.
Hart, 275, 277.
Hartley, 382.
Harris, 694.
Harrow, 285.
Hashimoto, 442, 678, 714, 715, 718.
Hasselbach, 376, 460, 463, 467, 710.
Hastings, 476, 477.
Hatiegann, 331.
Haubenrisser, 494.
Hauptmann, 507.

Haüsler, 586.
Hausmann, 542.
Hay, 334.
Hecht, 421, 486.
Hédon, 578.
Heidenhain, 447, 491.
Heilig, 482.
Hekma, 330, 404, 406.
Hell, 497.
Heller, 743.
Hellmuth, 393, 587.
Hellwig, 483.
Henderson, 376, 419, 462, 464, 466.
Henry, 30, 151, 411.
Hentze, 709.
Herdelberger, 424.
Herlitzka, 125, 467, 479, 480, 675.
Hertwig, 521.
Herzberg, 126, 240.
Herzfeld, 131, 132, 135, 136, 137, 141, 227, 333, 384, 406, 421, 429, 430, 489, 502.
Hess, 202, 289, 290, 291, 297, 298, 478, 539.
Hesse, 331.
Hetenyi, 587, 588.
Heubner, 115, 128, 196, 271, 407.
Heyrowski, 338.
Higashi, 422.
Hijmans van der Bergh, 387, 389.
Hildebrandt, 741.
Hill, 152, 496, 545, 687.
Hindhede, 262.
Hirsch, 721.
Hirschfeld, 373.
His, 173, 655.
Hoagland, 635.
Höber, 122, 364, 460, 487, 488, 489, 748.
Hofmeister, 26, 89, 121, 633, 753, 754.
Holm, 571.
Holts, 291, 296.
Holzer, 390.
Homans, 711.
Homer, 738, 739.
Hoogenhuize, 636, 637, 800.
Hooker, 196.
Hopkins, 113, 176, 212, 247, 282, 283, 284, 286, 530, 619, 646.
Horbaczewski, 542.
Hornemann, 553.
Howland, 289, 402, 478.
Hülse, 494, 499, 500, 686.
Hume, 296, 298, 584.
Humphrey, 275.
Hunter, 649.
Huntoon, 427.
Huppert, 743.
Hürter, 413.

Iagic, 431.
Iehle, 759.
Ingier, 203.
Isaac, 426, 429, 443, 583.
Isenschmid, 714, 716.
Itami, 377.
Iwao, 202.
Izar, 124, 441, 652.

Jacob, 178.
Jacobsthal, 437, 509.
Jacoby, 235, 402, 718.
Jackson, 580, 659.
Jaeger, 214.
Jaffé, 643.
Jagic, 427.
Jastrowitz, 400.
Jensen, 372.
Jochmann, 374.
Jodlbauer, 540, 541.
Joël, 657, 658, 678.
Johnson, 178, 682.
Jones, 142, 648.
Joslin, 576.
Jungmann, 733.
Junkersdorf, 555, 556, 560, 615.
Jürgensen, 313.

Kafka, 504, 506, 507, 509.
Kahn, 381, 384.
Kamnitzer, 587.
Kapsenberg, 435.
Karell, 311.
Karsner, 632.
Karr, 299.
Karrer, 60.
Katsunuma, 514.
Katz, 302, 474.
Kauders, 415.
Kautsch, 103.
Kawamura, 342, 597.
Keeton, 322.
Keller, 587.
Kemmerer, 354.
Kempmann, 749.
Kempters, 400.
Kendall, 210, 620, 683.
Kestner, 278.
Kimbal, 580.
Kichberg, 509.
Kisch, 381.
Kleitman, 124, 396, 578.
Klemensiewiez, 493.
Klinger, 131, 132, 135, 136, 137, 141, 227, 333, 384, 406, 421, 429, 430, 489, 502.
Klopstock, 424, 436, 437.
Kneschke, 539.
Knipping, 278.
Knoop, 195, 594, 599, 601, 602, 621, 624.
Knowlton, 480.
Koch, 193, 322, 708.
Kocher, 191.
Koeppe, 376.
Koessler, 183, 195.
Koga, 532.
Köhler, 128, 768.
Kohn, 400.
Kondo, 3.
König, 302, 661, 662.
Königsfeld, 539.
Konschegg, 733.
Kolle, 422.

Kopaczewski, 432, 435, 485.
Koranyi, 451, 454, 726, 749.
Kornfeld, 419, 468.
Kosakai, 427.
Kosawa, 361.
Kossel, 86, 90, 166, 168, 621, 624.
Kramer, 402, 478, 825, 827.
Kraus, 367, 393, 473.
Krehl, 442, 714, 716, 720.
Kreibich, 513.
Krogh, 496, 639, 691, 704, 730.
Krönig, 123.
Krylow (v.), 337.
Kuczinski, 181.
Kugelmars, 407.
Kühne, 139.
Kuliabko, 578.
Kumagawa, 815.
Küster, 147, 157.
Kutscher, 197.
Kyes, 425.

Lafranca, 554, 731.
Laidlaw, 205.
Lake, 481.
Lambling, 162, 248, 249, 264, 330, 340, 341, 352, 355, 553, 575, 594, 752.
Lampl, 111, 431.
Landerer, 440.
Landergren, 260.
Landou, 337.
Landsteiner, 111, 384, 423, 424, 427, 431, 436, 437.
Langmuir, 32, 71, 137.
Lange, 508.
Langer, 306.
Langstein, 268.
Laplace, 546.
Laquer, 672.
Laqueur, 682.
Laroche, 336, 342, 399.
Lasareff, 365.
Laufberger, 560, 584, 593.
Lavoisier, 546, 688.
Lebard, 540.
Lebedeff, 596.
Ledoux, 540.
Legal, 609.
Lehmann, 40, 336, 719.
Leiboff, 818.
Leimdorfer, 467.
Lemierre, 397.
Leooney, 627.
Lepehne, 331, 388, 389, 390.
Lépine, 374, 396, 562, 578, 583.
Leschke, 714, 718, 721, 733.
Lesser, 585.
Levene, 84, 165, 177, 178, 562, 651.
Lewis, 299, 634, 809.
Lichtenthaeler, 818.
Lichtheim, 498.
Lichtwitz, 174, 332, 338, 612, 767, 768.
Lieben, 609.
Liebensky, 538.
Liebermann, 79, 113, 353, 420, 421, 427.
Liebermeister, 720.
Liepmann, 587, 588.
Liesegang, 127.
Lignac, 215.
Lillie, 364, 365.
Lindemann, 610.
Lindhard, 704, 710.
Linzenmeyer, 486, 487, 488, 489.
Lipschitz, 521, 528, 532.
Locke, 472, 590.
Lockemann, 3.
Loeb, 38, 39, 119, 471, 542.
Loeffler, 186.
Loele, 514.
Loewe, 368, 598.
Loewenhardt, 660.
Loewy, 254, 628, 681, 697, 706, 707.
Löhr, 486.
Lombroso, 327, 346, 597.
Lo Monaco, 580, 683.
London, 324.
Long, 327.
Loudek, 682.
Löw, 276.
Löwenthal, 228, 240, 490.
Löwi, 275, 586.
Lyman, 324.
Lubarsch-Ostertag, 514.
Lublin, 811.
Luciani, 497, 683, 706.
Ludwig, 491, 727.
Luers, 509.
Lunin, 284.
Luros, 293.
Lusk, 299, 556, 701, 707.
Lussac, 8.
Lust, 760.
Lustig, 306, 422, 433, 597.
Lüthje, 555, 615, 711.
Luzzato, 408, 589.

Macallum, 294, 794, 795.
Macleod, 580, 581.
Macomber, 275.
Magasanik, 407.
Magnus-Levy, 606, 689, 690, 696.
Mandel, 818, 820.
Mansfeld, 698, 717.
Maragliano, 713.
Marcacci, 539.
Marcialis, 435, 439.
Marcovici, 468.
Marie, 342.
Mariotte, 8.
Markwalder, 665.
Marshall, 392, 634, 635, 791.
Marx, 623.
Marrian, 582.
Marriott, 609, 610, 812, 814.
Mathews, 14, 35, 44, 67, 69, 74, 85, 107, 317, 319, 321, 325, 372, 688 752, 805.
Matthes, 440, 442, 720.
Mavrakis, 596.
May, 256.
Mayer, 385.
Mc. Callum, 476, 478.
Mc. Carrison, 285, 296, 298.

Mc. Collum, 274, 275, 282, 283, 287, 288, 289, 290, 293, 298, 635.
Mc. Cornick, 581, 584.
Mc. Lean, 390, 821.
Mc. Nee, 336, 337.
Means, 614, 701.
Meesmann, 40.
Mehner, 390.
Mehring, 577.
Meier, 465, 505.
Meigs, 401.
Meirowsky, 214, 215.
Meissl, 77.
Meltzner, 578.
Mellanby, 183, 195, 289.
Mendel, 274, 280, 282, 286, 654.
Meneghetti, 124.
Menschel, 500, 501, 749.
Mestrezat, 505.
Metschnikoff, 350, 420.
Meyer, 78, 268, 366, 392, 422, 428, 714, 733.
Meyerhof, 528, 567, 568, 586, 669, 671, 672, 675.
Meyerhofer.
Michaelis, 118, 119, 316, 461, 470.
Miescher, 167.
Migay, 329.
Miller, 822.
Millon, 101, 112.
Minami, 532.
Minkowski, 575, 577, 655.
Miyadera, 300.
Mockeridge, 301.
Molisch, 106, 114, 334.
Molnar, 755.
Mond, 385.
Monod, 450.
Montagnani, 298, 299.
Moore, 53.
Morawitz, 124, 377, 383, 404, 405, 465,
Moreschi, 304.
Morgan, 424.
Moris, 649.
Mörner, 101, 610.
Morton, 628.
Morris, 419.
Moscati, 5.
Mosso, 466, 467.
Mouriquand, 292, 305.
Mühlheim, 408.
Müller, 99, 202, 354, 374, 485, 707.
Munk, 386, 596.
Murlin, 580, 787.
Murray, 476, 477.
Mya, 505, 679.
Myers, 379, 380, 391, 394, 507, 637, 793.

Nardelli, 655.
Nasse, 485.
Naunyn, 334, 336, 338, 572.
Negelein, 519, 570.
Neisser, 431, 445.
Nelken, 476, 477.
Nelson, 277, 290.
Neubauer, 114, 588.
Neuberg, 62, 63, 64, 65, 79, 115, 166, 214, 234, 236, 275, 530, 536, 537, 565, 566, 585, 589, 594, 628.
Neukirsch, 367, 458.
Neumann, 168.
Neuschloss, 401, 477, 483, 532.
Neuweiler, 432.
Newton, 659.
Nicolaier, 655.
Niederhoff, 438.
Nisse, 505.
Nobel, 506.
Noel, 475.
Noguchi, 506.
Nolf, 406, 408, 409.
Nonne, 504.
Nonnennruch, 677.
Noorden, 257, 277, 309, 310, 311, 312, 564, 573, 574, 576, 583, 608, 611, 612, 661.
Norman, 541.
Northrop, 229.
Nothmann, 475, 587.
Novaro, 296.
Novello, 124.
Novi, 663.
Nylaender, 758.

Obermeyer, 111.
Obersteiner, 384.
O'Brien, 584.
O'Conner, 685.
Oettingen, 438, 487, 488, 489, 490.
Offer, 661.
Olsen, 294.
Ondrejewitch, 610.
Onorato, 450.
Opitz, 352, 411.
Oppenheimer, 131, 250, 544, 546, 593.
Osborne, 274, 280, 282, 286.
Osterberg, 210.
Ostwald, 128, 502.
Otto, 240.
Ottolenghi, 124.
Overton, 361, 362, 363.

Pace, 454.
Pacini, 455.
Pagani-Cesa, 272.
Palmer, 400, 614.
Palladin, 299, 530.
Pandy, 506.
Panzer, 80.
Pappenheimer, 288, 478.
Parnas, 523, 575.
Parsons, 297.
Pascucci, 367.
Pasqualis, 284.
Pasteur, 42, 45, 219.
Paton, 475.
Patta, 187.
Patterson, 575.
Paul, 123, 173, 438.
Pauli, 23, 32, 118.
Pavlow, 269, 310, 322, 631.
Peiser, 203.
Pekelharing, 637, 638.

Pellegrini, 483.
Pende, 572.
Pennetti, 541.
Pentimalli, 373, 719.
Perrin, 20.
Perroncito, 632, 638, 655.
Pettenkofer, 79, 113, 333, 547, 688.
Peters, 413, 468.
Petersen, 440, 444, 445.
Petow, 443, 475.
Petragnani, 301.
Petroff, 329.
Pfaundler, 272.
Pfeffer, 360.
Pflüger, 555, 556, 596, 615, 693, 705, 708, 710.
Pi y Suñer, 463.
Piccaluga, 569.
Piccinini, 4, 479.
Pick, 111, 326, 384, 409, 442, 678.
Pieritz, 407.
Pieroni, 218.
Pietravalle, 439.
Pighini, 507, 663.
Piloty, 157.
Pincussen, 385, 538, 539.
Piper, 580.
Piria, 101.
Pirquet, 272.
Pitimada, 487.
Piutti, 45.
Pizzini, 721, 722.
Plaut, 486.
Plesch, 419.
Plimmer, 236, 412, 413.
Poensgen, 509.
Pohl, 291.
Pohle, 474.
Ponndorf, 713.
Popescu, 469.
Popielski, 326.
Porcelli-Titone, 536, 666.
Porges, 415, 419, 467.
Potthoff, 384.
Preti, 124.
Priestley, 419, 463.
Pringsheim, 60, 343.
Pugliese, 285, 286, 296, 300, 483.
Putter, 240.
Pzribram, 494.

Quagliariello, 116, 118, 154, 162, 164, 332, 379, 380, 381, 495, 662, 666, 667.
Quattrini, 215, 217.

Raab, 539.
Rabe, 411.
Ralls, 682.
Ramoino, 296.
Rathery, 305, 396.
Raubitschek, 542.
Ravaut, 450.
Regnault, 546.
Reichardt, 663.
Reichert, 77.
Reiner, 628, 489.
Reiss, 344, 446, 481.
Rennie, 578, 580.
Retzlaf, 389, 390, 650.
Reynolds, 275.
Rhode, 114, 393, 461.
Richter, 361, 451, 454.
Riesser, 637, 640.
Rietti, 610.
Ringer, 471, 472, 556.
Ritchie, 481.
Riva, 161, 741.
Rivalta, 503, 504.
Rododlav, 469.
Roemer, 718.
Rogonyi, 465.
Römer, 733.
Rona, 407, 443, 470, 475, 586.
Roncoroni, 665.
Rondoni, 5, 197, 203, 216, 217, 218, 234, 285, 290, 291, 298, 299, 300, 305, 306, 382, 420, 421, 427, 432, 433, 434, 435, 437, 522, 532, 536, 569, 745, 746.
Rosenbach, 209.
Rosenberg, 392, 731.
Rosenfeld, 596, 739.
Rosenheim, 291.
Rosenow, 385.
Rosenquist, 661.
Rosenthal, 331.
Rossi, 484, 748.
Rother, 465, 467, 650, 652.
Roubitschek, 587.
Rouget, 196.
Roussy, 733.
Rovire, 598.
Roxas, 106.
Rüberg, 377.
Rubino, 52.
Rubner, 254, 265, 546, 688, 700, 701, 705.
Rule, 413.
Runeberg, 503.
Ruppel, 426.
Russel, 532, 571.
Ryvosh, 367.

Sabatini, 160, 388, 389, 390, 589, 742, 755.
Sabbatani, 124, 126, 409, 449, 454.
Saccardi, 197, 217, 218.
Sacharoff, 540.
Sachs, 382, 421, 423, 424, 425, 434, 435, 436, 437, 438, 444, 488, 490, 509, 540, 714.
Sahli, 317, 318, 410, 428, 503, 713, 762.
Sahlmann, 435, 438.
Saito, 461.
Salant, 124.
Salen, 367.
Salkowski, 79, 218, 739, 743, 753, 754, 798.
Salomón, 411, 612, 661.
Salus, 504.
Salvesen, 684.
Samec, 173.

Sammartino, 474, 590.
Samuely, 214.
Sano, 406, 407.
Sargo, 333.
Sarker, 501.
Savaré, 754.
Scaffidi, 481, 554, 632, 633, 639, 653, 655.
Scobolew, 578.
Scott, 578, 580, 581, 685.
Schade, 22, 26, 120, 174, 175, 315, 337, 338, 339, 345, 352, 362, 431, 441, 448, 449, 452, 453, 455, 458, 460, 461, 471, 485, 490, 493, 494, 495, 500, 501, 502, 658, 711, 767, 768, 769.
Schaeffer 78, 285.
Schaffer, 176, 607, 608.
Schanz, 537.
Schall-Heisler, 276.
Schardinger, 60, 520.
Schaumann, 285, 293.
Scheer, 438.
Schemensky, 489.
Schettino, 288, 290.
Scheuerlen, 123.
Schiassi, 590.
Schick, 272.
Schierge, 382.
Schiff, 93, 112, 175, 327, 786.
Schiller, 413.
Schimmelbusch, 410.
Schirokauer, 587.
Schittenhelm, 280, 306, 329, 440, 442, 501, 649, 650, 651, 652, 655, 658, 659, 660.
Schlecht, 306, 501.
Schlesinger, 740.
Schleyer, 732, 759.
Schlossmann, 354.
Schmidt, 165, 324, 342, 344, 345, 347, 349, 351, 401, 404, 408, 422, 541.
Schmiedeverg, 396, 516, 631, 633.
Schminge, 302.
Schmitz, 672.
Schmorl, 203.
Schollen, 682.
Schönbein, 743.
Schönborn, 715.
Schönfeld, 484, 494.
Schottmüller, 387.
Schreiber, 443.
Schröder, 486, 632.
Schultz, 442, 639.
Schulze, 25, 514, 578.
Schuster, 733.
Schutzenberger, 86.
Schwarz, 610, 668.
Segale (M.), 3.
Seliwanof, 47.
Selling, 390.
Senator, 388, 721.
Serono, 817.
Servadio, 334.
Setti, 301.
Seyderhelm, 350.
Shaffer, 605, 610, 794, 813.
Sherman, 275, 288.
Shonle, 581.
Sicard, 450.
Siebeck, 361, 364.
Siebert, 475.
Siegfried, 105, 417.
Siegmund, 426.
Signorelli, 399, 753.
Silbert, 536.
Silberstein, 569.
Simmel, 376.
Simmonds, 293.
Sjollema, 299.
Slyke (v.), 106, 163, 279, 376, 392, 413, 465, 781, 782, 783, 785, 791, 821, 827, 828.
Slosse, 562.
Smith, 481, 584.
Snapper, 354, 394, 742, 755.
Snyder, 480.
Sörensen, 15, 93, 104, 836.
Spadolini, 127, 300, 457, 684, 685.
Spallazani, 531.
Speck, 417.
Sperlinh, 586.
Spiegel, 477.
Spiegler, 579.
Spiro, 123, 404, 409, 470, 483.
Stadie, 413, 465, 827.
Stanek, 199.
Stangassinger, 637.
Stanke, 483.
Stanton, 285.
Starling, 252, 325, 480, 729, 730.
Starlinger, 488, 489.
Staub, 578, 582, 583, 678.
Steenbock, 275, 277, 290, 637, 640.
Stephan, 382, 407.
Stepp, 284, 285, 287, 397.
Stern, 475, 509, 523, 524, 531.
Steudel, 177, 660, 818, 820.
Stoeber, 302.
Stokes, 149.
Stokwis, 387.
Storm van Leeuwen, 686.
Strassburger, 344, 346, 347, 349, 351.
Strassmann, 715.
Straub, 366, 465, 467, 471.
Strauss, 389, 469, 537, 585, 732, 739.
Strecker, 527, 622.
Streuli, 680.
Stubel, 665.
Stuber, 184, 406, 407, 636, 640.
Suto, 815.
Suzuki, 729.
Szappanyos, 335.
Szekely, 353.

Tachau, 394.
Takahashi, 287.
Takaki, 284, 369.
Talma, 387.
Talquist, 424.
Tappeiner, 539, 541.
Tarantola, 741.
Taylor, 822.

Teichmann, 155.
Ten Broeck, 91.
Terni, 480.
Testoni, 540, 541.
Thannhauser, 156, 159, 160, 332, 393, 650, 657, 658, 659.
Thomas, 260, 261, 282.
Thormaehlen, 745.
Thiducum, 738.
Thunberg, 236, 523, 526, 527.
Tigerstedt, 494, 531, 549, 695, 705, 706.
Tisdall, 402, 825, 827.
Titone, 536.
Tollens, 49, 51, 53, 589.
Tonietti, 437.
Tormaehlen, 217.
Torquati, 201.
Torraca, 541.
Traube, 359, 360.
Traugott, 678.
Treadwell, 777.
Trendelenburg, 685.
Trillat, 228.
Troensegaard, 104.
Trommer, 756, 758.
Trommsdorf, 427.
Tyndall, 18, 115.
Tullio, 394.
Twort, 183, 195.
Tyrode, 473.

Ucko, 733.
Uffelmann, 323.
Uhlmann, 300.
Uldschinsky, 290, 539.
Ullmann, 660.
Umber, 573, 590, 650, 657, 766, 767.
Underhill, 474.
Unger, 297, 298.
Unna, 514.
Urano, 637.
Urbeanu, 275.
Urwitz, 428.
Uyeno, 510.

Vallés, 352.
Vallen, 240.
Vallmer, 686.
Vanni, 577.
Vannucci, 426.
Van't Hoff, 8, 220, 479, 721.
Varela, 52.
Varisco, 187.
Vernoni, 460.
Verploegh, 636, 800.
Versé, 342.
Verworn, 368.
Viale, 266, 539, 541, 542.
Viola, 454, 470.
Virchow, 596.
Voegtlin, 476.
Vogel, 395.
Voit, 251, 262, 531, 547, 615, 688.
Volhard, 451, 731.
Volk, 430.
Vollmer, 713.
Vordermann, 284.
Vorschütz, 490.

Waage, 220.
Wacker, 302.
Wagner, 302, 475.
Waldo, 581.
Walker, 465.
Warburg, 33, 94, 300, 366, 368, 369, 421, 441, 457, 516, 517, 519, 532, 533, 569, 570.
Warton, 180.
Wassermann, 369. 422, 433.
Watanabe, 477.
Weber, 704.
Weichardt, 440, 442, 443, 444, 445,
Weichbrodt, 506.
Weidel, 175.
Weil, 292, 305, 436, 504, 507, 664, 734.
Weinberg, 408.
Weinschenk, 393.
Weinstock, 290.
Weisbach, 434.
Weiss (M.), 197, 396, 737, 738, 745, 746.
Weiss-Ostborn, 488.
Weitzel, 4.
Wells, 422.
Werner, 633, 634.
Wernstedt, 351.
Wertheimer, 296.
Wessel, 502.
Weyl, 193.
Whipple, 388.
Widal, 279, 347, 385, 392, 409, 443, 499, 450, 732.
Wiechowski, 649, 650, 651.
Wiechmann, 486.
Wiegner, 407.
Wieland, 81, 82, 236, 237, 333, 513, 516, 518, 519, 521, 522, 525, 528, 529, 594, 602.
Wiener, 649.
Willaman, 294.
Williams, 293.
Willstaetter, 81, 156, 157, 159, 228. 553.
Wind, 570.
Windaus, 80, 81, 195, 291, 817.
Winter, 449, 584.
Winterstein, 368, 463, 664.
Wittgenstein, 324, 506, 507.
Woglom, 532.
Wöhler, 206, 634.
Wöhlisch, 407, 410.
Woodyatt, 607.
Wörner, 331.
Wright, 460, 607.
Wu, 776, 777, 782, 793, 822.

Zaloziecki, 508.
Zanda, 5,.
Zangger, 493.
Ziegler, 174, 175, 539.
Zilva, 297.
Ziveri, 505.

Zloczower, 572.
Zoia, 156, 160, 161, 388, 400, 741, 767.
Zondek, 473, 474, 475.
Zsigmondy, 508.
Zucker, 402.
Zuelzer, 578.
Zuntz, 259, 550, 551, 689, 695, 699 706, 711.
Zunz, 282, 392.
Zwaardemaker, 472.

Publicaciones Médicas Labor

Fisiología humana.

Por el Prof. Dr. Rudolf Höber, Profesor de Fisiología y Director del Instituto de Fisiología de la Universidad de Kiel. Traducción de la 3.ª edición alemana. 616 páginas con 256 ilustraciones.

Tratado de Patología general y Anatomía patológica.

Por el Prof. Dr. H. Ribbert † y Dr. J. G. Mönckeberg, Profesor de Patología general y Anatomía patológica de la Universidad de Bonn. Traducción de la 9.ª edición alemana. 900 páginas, 852 figuras, muchas de ellas en color.

Coloides y Fermentos.

Iniciación teórico - práctica para Médicos, Biólogos y Estudiantes. Por el Profesor José M.ª Susaeta, del Instituto de Vitoria. 283 páginas con 69 ilustraciones.

Farmacología.

Por el Dr. E. Poulsson, Profesor de Farmacología en la Universidad de Cristianía. 648 págs. y 36 figuras. Traducción de la 7.ª edición alemana.

Análisis clínicos. **El Microscopio y la Química al servicio de la Clínica.**

Por el Dr. H. Lenhartz, de la Universidad de Leipzig, y el Prof. Erich Meyer, de la Universidad de Estrasburgo. 391 páginas con 196 grabados, muchos de ellos en color. Traducción de la 9.ª edición alemana.

Compendio de Química.

Para Médicos, Farmacéuticos, Químicos y Naturalistas. Por el Prof. Dr. Hermann Thoms, Director del Instituto Farmacéutico en la Universidad de Berlín. Con 572 páginas y 108 ilustraciones.

Compendio de Física.

Para Médicos, Famacéuticos, Químicos y Naturalistas. Por el Prof. Dr. Ernst Lamla, Director de Estudios Superiores en Berlín. 329 páginas con 250 figuras.

Tratado de Química-Física.

Por el Prof. Dr. John Eggert, de la Universidad de Berlín. 500 páginas con 111 figuras.

Medicamenta. **Formulario-Guía teórico-práctico para Médicos, Farmacéuticos y Veterinarios.**

3.ª edición. Dos tomos, con un total de 1896 páginas, encuadernados en tela.

Para más detalles de estas obras ofrecemos gratis folleto explicativo

LAS ESPECIALIDADES EN LA MEDICINA PRÁCTICA

Publicado con la colaboración de eminentes Profesores especialistas

Tamaño 16 × 24 cm. :: Encuadernación en tela

I. **Tuberculosis.**

Por el Prof. Dr. G. DEYCKE, Médico Jefe de la Sección de Medicina interna y Director del Hospital General de Lübeck. — 335 páginas con 2 ilustraciones.

II. **Enfermedades infecciosas : Su moderna interpretación**

Por el Prof. Dr. G. JÜRGENS, de la Universidad de Berlín. — 374 páginas con 112 gráficos.

III. **Enfermedades del oído.**

Por los Profs. Dres. A. JANSEN y F. KOBRAK, de la Universidad de Berlín. — 400 páginas con 104 ilustraciones.

IV. **Enfermedades del riñón.**

Por el Prof. Dr. L. LICHTWITZ, Director del Hospital de Altona. 345 páginas con 4 ilustraciones y 35 gráficos.

V. **Enfermedades del corazón y de los vasos.**

Por los Dres. HEINRICH HOCHHAUS, Prof. de la Academia de Medicina práctica de Colonia, y G. LIEBERMEISTER, Director de la Sección de Medicina interna del Hospital de Düren. — 352 páginas con 72 ilustraciones.

VI. **Psiquiatría.**

Por el Dr. H. W. GRUHLE, Prof. de la Universidad de Heidelberg. 328 páginas con 23 ilustraciones.

VII. **La Sífilis : Con especial consideración de los órganos internos Su diagnóstico y tratamiento.**

Por los Dres. E. MEIROWSKY, Prof. de la Universidad de Colonia, y FÉLIX PINKUS, Prof. de la Universidad de Berlín. — 597 páginas con 79 ilustraciones, la mayor parte en color.

VIII. **Enfermedades del estómago y del intestino.**

Por el Dr. K. FABER, Prof. de la Universidad de Copenhague. — 312 páginas con 70 ilustraciones.

IX. **Enfermedades de la sangre.**

Por el Dr. E. ROSENOW, Prof. de la Universidad de Jena. — 305 páginas con 43 ilustraciones, la mayoría en color.

X. **Enfermedades de la piel.**

Por el Prof. Dr. GEORG A. ROST, de la Universidad de Friburgo. 420 páginas con 104 figuras, muchas de ellas en color.

NUEVOS VOLÚMENES EN PREPARACIÓN

Remitimos gratis catálogo y folletos especiales de todas nuestras publicaciones