

peso de animal. Inyéctense 10 ratones de un peso aproximado de 20 gramos.

Opérese del mismo modo con otra solución de neo-salvarsan a 0 gr. 85 %.

Después de la inyección, consérvense cuatro días en observación los ratones en un cuarto a la temperatura de 19.° a 20.°, en bocales guarnecidos de algodón y granos alimenticios. Los animales inyectados pierden generalmente de peso durante 48 horas. Este peso se recupera al cuarto día por los animales sobrevivientes.

Si siete ratones del primer lote y seis ratones del segundo no sobreviven, el producto no debe ser puesto en venta.

Siempre que sea posible, un operador hace el ensayo sobre el ratón con la solución de 0 gr. 75 % y otro hace el mismo ensayo con la solución de 0 gr. 85 %.

A. Peluffo.

Mayo 4 de 1929.

---

## Lecciones de Física Farmacéutica

por el Prof. Agregado B. Renom Ylla.

### El Problema de las soluciones isotónicas con el suero sanguíneo

#### Rol de algunos factores físicos en la obtención racional de las mismas

Conviene indicar antes de entrar en materia, que ha quedado modificado, de un tiempo a esta parte, el concepto que se tenía en Farmacología, de la antigua clasificación de los sueros en Naturales y Artificiales.

Sabemos que el tejido sanguíneo de los animales está constituido por multitud de células, los glóbulos, flotando en una sustancia intercelular líquida espontáneamente coagulable: el plasma. Este es de reacción ligeramente alcalina que lleva en disolución gran número de sales y albuminoides, lo cual se explica por ser el vehículo de todos los elementos nutritivos y el colector de todos los productos desasimilados. La sangre fuera de los vasos forma una masa consistente que aprisiona a los glóbulos, dando el coágulo de color rojo, bañado por un líquido casi incoloro; el suero, cuya composición ofrece algunas diferencias con el primitivo plasma.

Este suero sanguíneo es utilizado en terapéutica, constituyendo la base de la medicamentación seroterápica, que puede consistir en el uso de sueros de animales sanos, denominados sueros normales, (de caballo,

de buey etc.) o bien en sueros extraídos de animales sanos a los que se les ha hecho sufrir experimentalmente algún proceso infeccioso, mediante la inyección de diversas sustancias denominadas en Bacteriología, antígenos, (microbios, fermentos solubles, humores, etc.) que provocan en el animal es decir "in vivo" la elaboración de elementos de naturaleza todavía desconocida, llamados anticuerpos y a los que debe el suero su poder inmunizante; ejemplo el suero antidiftérico, antitetánico, etc.

Tanto a los sueros normales como a los que contienen anticuerpos elaborados "in vivo" se les conoce con el nombre de Sueros Naturales.

En cambio se han considerado impropia-mente como sueros artificiales, a distintas soluciones de sales minerales u orgánicas, obtenidas empleando el agua como disolvente a la que se agregan aquellas en proporciones convenientes, para dar una concentración que sea isotónica o muy próxima a la del suero sanguíneo humano, y que son utilizadas en múltiples circunstancias en substitución de las transfusiones de sangre. (en anemias consecutivas a grandes hemorragias, en caso de intoxicación para el lavado de la sangre, etc.).

Tales soluciones se encuentran consignadas en todas las obras clásicas, con el nombre de Sueros artificiales, figurando en-



tre otras, el suero fisiológico, el suero de Hayem, el suero de Quintón, el suero glucosado etc., denominación juiciosamente combatida por gran número de autores porque no tienen con el suero natural, otra relación que la de pretender substituirlo, sobre todo en sus propiedades fisico-químicas, ocupando por lo tanto un lugar en la nomenclatura, que corresponde de hecho a otras sustancias, incorporadas recientemente al acervo científico, gracias al Dr. Mez de la Universidad de Königsberg, quien preocupado primeramente en trabajos de carácter exclusivamente botánico, extendió luego sus investigaciones hacia otras direcciones, ajenas a su especialidad, en las que halló la clave de los verdaderos sueros artificiales, justificando una vez más aquel aserto del incomparable Ramón y Cajal: "Bueno y necesario es especializarse, consagrar la vida entera a una obra magna; pero no nos concentremos y abismemos hasta el punto de ser incapaces de apreciar siquiera sea superficialmente, la labor de los demás especialistas y aun la frívola y tornadiza actividad de quienes se enorgullecen de carecer de callos en el cerebro y en las manos".

Pudo demostrar el Dr. Mez después de pacientes investigaciones, que es posible obtener la formación de anticuerpos "in vitro" es decir, fuera del propio organismo: en efecto, colocando en tubos de ensayo un antígeno cualquiera con suero normal de buey adicionado de ácido fénico al 1 % y manteniendo la prueba a 37.° C. se observa una reacción; el líquido sufre un enturbiamiento para volverse más o menos claro después de cierto tiempo, dando después de algunas manipulaciones un inmuno-suero-específico; es decir, representa un suero inmunizante para el antígeno utilizado en cada caso.

Por caminos distintos pudo demostrarse que los sueros naturales producidos in vivo y los artificiales elaborados in vitro, contienen las mismas sustancias específicas; algunas docenas de sueros naturales y artificiales producidas paralelamente presentaron reacciones completamente iguales. La interpretación de estos hechos tan esquemáticamente expuestos, no puede ser obje-

to de nuestro estudio, pero con lo indicado podemos formarnos una idea de la importancia que adquirirán en el futuro los sueros artificiales.

Nuestra atención va dirigida a la obtención de las soluciones salinas simples o medicamentosas, destinadas a penetrar directamente al torrente circulatorio, en cantidades relativamente grandes, y recorrer con él todas las ramificaciones del territorio orgánico. Para que sean racionales, deberán contener todos los componentes minerales y orgánicos que constituyen el plasma, o en una primera aproximación los que integran el suero sanguíneo: pero este desideratum es por el momento una verdadera utopía, no disponemos en efecto de técnica alguna que nos permita reproducir exactamente toda la variedad química de tales componentes materiales, y especialmente las diferencias físicas de la heterogénea estructura de su contenido, pero la obtendremos algún día? así cabe esperarlo; aunque parezca pretencioso tal aserto puede que no lo sea cuando se conocen ya muchos casos, sobre todo en química sintética, que han permitido no sólo igualar sino superar a la misma naturaleza; de fecha reciente es la preparación por síntesis de la cocaína dextrogiro, con propiedades anestésicas superiores a la natural, levogiro, existente en las hojas de Coca.

Si por el momento no nos es posible igualar al suero normal humano debemos tratar de acercarnos a ello todo lo más posible: complejidad tan grande solo puede ser explorada con provecho, estudiándola conforme a los preceptos del método analítico, es decir por partes, y aplicando luego los recursos que la ciencia ponga a nuestra disposición para reproducirlas.

Vamos a considerar pues el rol de los principales factores físicos, iniciándolo por el de mayor importancia LA ISOTONIA.

En el estudio cronológico de la presión osmótica, se distinguen netamente 4 etapas que representan otras tantas desde el punto de vista científico; la primera corresponde a Dutrochet quien en 1826 estableció de una manera empírica los hechos fundamentales; la segunda comprende a Pfeffer quien en 1877 determinó experimentalmen-



te la P. O. absoluta gracias al artificio de las membranas semi-permeables; la tercera, que es para nosotros una de las más importantes, se inicia con los trabajos del botánico H. de Vries en 1884 sobre las P. O. relativas, estudiando la isotonia mediante la plasmolisis vegetal y continuada por sus discípulos, Donders y Hamburger con células animales; la última etapa, que podríamos llamar doctrinaria, es la que corresponde a las memorables deducciones teóricas de Van t'Hoff asimilando la P. O. a la de los gases y completada más tarde por Arrhenius con su célebre teoría de la disociación electrolítica.

Cada una de estas etapas dejó provechosas enseñanzas que nosotros consideraremos en sus aplicaciones a la biología; forzoso será, pues, internarnos, si bien de una manera elemental, en el terreno de la Fisiología definida por Claudio Bernard, como la "Física y Química de los seres vivos". Pero como los fenómenos fisiológicos son en general tan complejos, nosotros por razones didácticas, los estudiaremos aplicados al elemento fundamental de todo ser viviente, la célula, ocupándonos solamente de aquellos que directamente nos interesen.

Rol del agua. — Todo protoplasma contiene agua interpuesta en sus moléculas, comparable al agua de cristalización en los cristales: esta agua es indispensable para las manifestaciones de los fenómenos vitales, puesto que si se sustrae una parte, se disminuye la actividad vital: se admite generalmente la teoría de Naegeli de que la materia organizada no está formada de simples moléculas como los cuerpos inorgánicos, sino por agregados moleculares de forma y volumen variables: las micelas. Estas están no solo sometidas a sus mútuas acciones, sino que ejercen una fuerte atracción sobre las moléculas del agua, en efecto, desecando la substancia orgánica las micelas se aproximan, pero quedan separadas las unas de las otras por una débil capa de agua adherente. Cuando por el contrario se someten a la imbibición, las micelas atraen al agua con más fuerza de la que se atraen entre sí separándose para darle entrada, esta agua interpuesta determina la turgescencia. Además existe el agua de ca-

pilaridad ya sea repartida entre grupos de micelas o acumuladas en cavidades llamadas vacuolas. Encontramos pues el agua bajo tres formas, que difieren por el grado de movilidad de sus moléculas a saber, el agua de constitución fija e inmovilizada por las fuerzas químicas; el agua de adhesión formando capas concéntricas alrededor de las micelas retenidas por fuerzas de cohesión y tanto más móviles cuanto más alejadas estén de las micelas y finalmente el agua de capilaridad, libre y móvil en los intersticios de los grupos micelares. En los fenómenos osmóticos que pasaremos enseguida a considerar, intervendrán las dos últimas formas, que constituyen el 70 a 90 % del peso de los organismos con las consiguientes variaciones de edad y estado fisiológico. Resulta de estas breves nociones que el agua es uno de los elementos fundamentales de la materia viva, se justifica pues que un gran número de las propiedades de esta, se encuentren bajo el dominio de las propiedades del agua.

Rol de la ósmosis. — Es generalmente al estado líquido que son absorbidas la mayor parte de las substancias nutritivas, ya sea disueltas en el agua, o bien en el líquido que baña la célula, savia, sangre, plasma, etc. La penetración del líquido es debida a la ósmosis, fenómeno estudiado por Dutrochet y que no es otro que la difusión de dos líquidos hecha a través de una membrana porosa; se establece a través de la misma, dos corrientes de intensidad diferente, una más intensa llamada endosmótica y otra más débil, la exosmótica. La doble corriente cesa, cuando los dos líquidos, separados por la membrana, tienen la misma composición, se denominan entonces isotónicas. Pero además de estas membranas que presentan la ósmosis bilateral hay otras en que ella es unilateral, es decir no dejan pasar más que uno de los dos líquidos, el agua pura por ejemplo, son las llamadas semipermeables, estudiadas por Pfeffer. La mayor parte de las células vegetales tienen una membrana externa celulósica, que responde a la ósmosis bilateral, dejando pasar las soluciones de cristaloides, mientras que la capa de protoplasma que tapiza interiormente esta membrana es hemipermeable,



retiene los cristaloides que son utilizados en su masa, y deja pasar el agua, que se acumula en las vacuolas y se reparte en el interior de la célula constituyendo el jugo celular. Cuando la célula se encuentra en equilibrio de presión osmótica con el medio ambiente si se aumenta la concentración de éste, ya sea por evaporación o agregando una substancia soluble, una cierta cantidad de agua sale del jugo celular y el protoplasma se contrae separándose de la membrana celulósica; es el fenómeno de la plasmolisis estudiada por de Vries. Si por el contrario se disminuye la concentración del medio ambiente añadiendo agua, la célula

co, en que las causas de error son numerosas. Determinó primero con aparatos sensibles, cual era el descenso crioscópico del agua del mar, tomándola a distancias variables de la costa y a profundidades también distintas; resultó siempre ser igual a 2,° 02 lo que corresponde a una concentración molecular de 1,09 y a una presión osmótica de 25,8 atmósferas. Tomó luego algas de la misma especie, las lavó rápidamente con agua destilada, y secadas luego cuidadosamente con papel de filtro; sometidas a una fuerte expresión suministraron un jugo que dió un descenso crioscópico distinto para cada especie.

	Punto crioscópico	P. O. en atmosferas.	Exceso de P. con relación al agua del mar
Agua de mar . . . . .	— 2.02 . . . . .	25.8 . . . . .	0.0
<i>Facus vesiculosus</i> . . . . .	— 2.07 . . . . .	26.5 . . . . .	0.7
<i>Himanthalia lorea</i> . . . . .	— 2.02 . . . . .	25.8 . . . . .	0.0
<i>Codium tomentosum</i> . . . . .	— 2.03 . . . . .	26.0 . . . . .	0.2
<i>Laminaria flex</i> . . . . .	— 2.42 . . . . .	31.0 . . . . .	5.2
<i>Saccorhiza bulbosa</i> . . . . .	— 2.38 . . . . .	30.5 . . . . .	4.7

absorbe una nueva cantidad, se vuelve turgente, tenemos pues en la célula vegetal un reactivo, para poder determinar la presión osmótica relativa de las distintas soluciones, vamos a considerar la garantía que presenta dicho reactivo para poder confiar en sus indicaciones.

Podría creerse con lo dicho que el jugo celular debería presentar siempre una presión osmótica vecina o igual a la del medio en que naturalmente se encuentra, y sin embargo gran número de determinaciones experimentales, demuestran que casi siempre sucede lo contrario. Vamos a transcribir algunos datos de una memoria presentada por el Prof. Dognon de Strasburgo (1922) obtenidos con algas marinas que son los materiales que mejor se prestan para esta clase de observaciones, puesto que en ellas los fenómenos osmóticos son simples; se tiene por un lado un medio de P. O. bien definida y constante, y por el otro células simples, morfológica y funcionalmente poco diferenciadas.

Aprovechando de las relaciones que hay entre la P. O. y la crioscopia, deducidas por Von t' Hoff y Arrhenius, Dognon operó por crioscopia, porque permite obtener datos de mayor precisión que el método plasmolítico,

El estudio de estos datos demuestra que las algas examinadas pueden dividirse en dos grupos, unas aproximadamente isotónicas con el agua del mar, las otras por el contrario fuertemente hipertónicas.

Para comprobar si el jugo de tales ejemplares, eran soluciones coloidales de complejos orgánicos en el agua de mar se determinó por el método de Kohlrausch, la conductividad eléctrica de los mismos con los siguientes resultados obtenidos con relación a una solución normal de cloruro de potasio (t-17.°).

	Resistencia en cm. para llevar el silencio al teléfono	Valor proporcional a conductividad molecular
		$C_m = \frac{1}{\frac{R}{m}}$
Solución normal Kce	1.5	0.66
Agua de mar	1.7	0.53
<i>Laminaria flex</i>	1.82	0.41
<i>Himanthalia lorea</i>	1.95	0.47
<i>Saccorhiza bulbosa</i>	2.2	0.24

Se ve que la conductividad molecular de los jugos es siempre inferior a la del agua del mar, mismo en las algas que son isotónicas con el medio ambiente; una parte de



la presión se debe a los cristaloides orgánicos, vale decir que la concentración en sales es menor en el medio interior que en el medio exterior o que la disociación es menor.

Desde el punto de vista de la P. O. el estudio crioscópico demuestra que entre las algas examinadas hay grandes diferencias, en las Laminarias encontramos sobrepresiones de 5 atmósferas, en las Saccorhiza de 4.7. en las demás el valor es casi constante, ¿Cuál es la razón de esta diferencia? Como lo ha demostrado H. Kylin, las algas, presentan en su metabolismo una extrema diversidad, la proporción de cuerpos orgánicos y minerales es muy variable, y estas diferencias pueden ser debidas ya sea a una diferencia de naturaleza en el metabolismo, ya sea en una diferencia de grado, es decir que la velocidad de transformación de los cuerpos elaborados pueda variar en proporciones considerables.

Un gran aumento de P. O. con relación al medio, puede considerarse también en los hongos que se desarrollan a veces en los jarabes, cuya presión osmótica es considerable; el hecho se observa también con sustancias minerales de gran concentración nitrato de sodio a 38 %.

Se ha podido demostrar además que los fenómenos osmóticos anteriormente considerados dependen exclusivamente del estado viviente de la célula, existe un alga cloroficea la Spirogyra, formada por filamentos de células unidas entre si que contiene una membrana celulósica y varias espirales verdes, los cromatóforos de origen protoplasmático, luego una gran vacuola central y el núcleo colocado en un punto del protoplasma. Si se observa al Microscopio la célula viva, no se puede distinguir nada más que la membrana y los cromatóforos. En cambio al ultramicroscopio, aparece la membrana muy brillante, los cromatóforos también bien aparentes, hasta se adivina el núcleo que aparece como una débil nebulosidad, pero llama sobre todo la atención, la existencia de un gran número de puntos brillante, colocados exclusivamente en la

capa protoplasmática en constante y activo movimiento, tales partículas no tienen tanto interés por si mismas como porque revelan la posición del protoplasma y demuestran de una manera evidente que él es líquido, puesto que estos movimientos tienen las características de los brownianos. Si se mata la célula mediante un fijador histológico, se vé inmediatamente la inmovilización del protoplasma, cualquiera que sea el agente fijador, no hay pues que considerar acción específica alguna. Es interesante hacer notar que entre los agentes de coagulación está el agua destilada que tiene una acción sobre la materia viva, de tanta actividad, como los alcaloides, el cloroformo, los cianuro, etc. La célula viva contiene sustancias colorantes de gran P. M. disueltas en el jugo celular que no atraviesan el protoplasma, pero cuando este muere, pasan fácilmente, puesto que en tales circunstancias la estructura del protoplasma es la de un coágulo formado por las micelas unidas, presentando entre si pequeños intersticios, o es simplemente un filtro por cuyos capilares se hace el pasaje del jugo celular. Estos hechos nos demuestran la íntima relación que existe entre la vida y la P. O. a que aludíamos al principio.

El método de De Vries es precioso como método de comparación, operando con soluciones en series de igual o diferente P. O. pero después del estudio crítico que acabamos de verificar nos convenceremos que sus determinaciones con ser tan importantes son solo aproximadas, los valores obtenidos dependen de múltiples factores, relacionados con la especie vegetal, la edad de la célula, estado de su metabolismo, actividad vital etc. de aquí que Donders y Hamburger buscaran un método comparativo más seguro para el estudio de los medios orgánicos animales, como es nuestro caso con el suero sanguíneo, y cuyos resultados pasaremos a considerar.

(Continuará).