

## SECCION CIENTIFICA

## Lecciones de Física Farmacéutica

Por el profesor agregado B. Renón Illa

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

(CONTINUACIÓN)

**Método de Hamburger y Donders.** — Estos investigadores, continuando las experiencias de De Vries, encontraron en el glóbulo rojo, un nuevo elemento para estudiar: la P. O. relativa, dando a conocer el fenómeno de la hemolisis que ha sido considerado como una demostración de que las células animales funcionan también como osmómetros; veamos en que consiste y cual es la interpretación que se le ha dado.

Se sabe que los glóbulos rojos de los mamíferos no son en realidad verdaderas células sino pequeñas masas sin núcleo, de naturaleza homogénea, cargadas de un pigmento especial ferruginoso: la hemoglobina, y adaptadas a una función particular: la fijación del oxígeno. Se ha visto además que son elásticos, porque se deforman al pasar por los capilares.

Si se observa al microscopio una suspensión de hematies en agua destilada, se ven desaparecer como disueltos por el líquido, al que abandonan la materia colorante dando un tinte de color rosado, límpido, y quedando de cada uno un pequeño residuo insoluble: el estroma.

Si se repite la experiencia con soluciones salinas de concentraciones crecientes, se encuentra una zona isotónica en la que los hematies se conservan intactos, mientras que para soluciones más concentradas, hipertónicas, los glóbulos se deforman, se contraen, reduciendo su volumen.

Se dá el nombre de hemolisis al fenómeno observado en la primera experiencia, es decir disolución parcial del hematie con liberación de la hemoglobina; nótese que no decimos por la acción de una solución hipotónica, exclusivamente, porque la hemolisis se ha presentado obedeciendo a otros mecanismos; en

Bacterología por ejemplo se estudian algunos microbios que presentan tal propiedad: todo un grupo de substancias vegetales llamadas saponinas, porque sus propiedades físicas son parecidas a la de los jabones, presentan también intensa acción hemolítica: inyectando a un animal por vía intravenosa algunas gotas de suero normal de anguila, muere al poco tiempo con disolución total de sus glóbulos; encontraremos más adelante la explicación de tan raro fenómeno.

La experiencia de Donders y Hamburger se puede disponer con más precisión, relacionando el punto crioscópico de una serie de soluciones salinas de concentraciones escalonadas, con el del suero sanguíneo que presenta valores distintos para cada especie: en el hombre 0.56, en el caballo 0.58, en el buey 0.60, en el perro 0.59, en el gato 0.61, etc.

Se numeran una serie de 10 tubos de ensayo: en el tubo N.º 1 se coloca 10 c.c. de agua destilada, punto crioscópico 0; en el N.º 2 el mismo volumen de una solución de CINa con punto crioscópico de 0.10; en el tubo N.º 3 un volumen igual de la misma solución salina pero más concentrada con punto crioscópico 0.20 y así sucesivamente hasta el número 10 con punto crioscópico de 0.90. Se prepara por otro lado un volumen de G. R., por ejemplo de buey previamente lavados y centrifugados que se reparten entre los 10 tubos, constatándose pasadas algunas horas que en los tubos 10, 9, 8, y 7 los hematies se depositan quedando la solución incolora, mientras que en los tubos restantes el depósito globular disminuye a medida que disminuye el punto crioscópico, aumentando en cambio el tinte que es más rojizo cuanto más cerca esté el tubo del N.º 1 en que el color es rojo vivo.

Estudiando al microscopio el depósito globular, se ve que el de los tubos 10, 9, presentan los hematies completamente deformados y contraídos, el del tubo 7 con glóbulos

normales y el de los tubos restantes con proporciones cada vez más crecientes de estromas hasta llegar al N.º 1 en que los restos globulares constituyen la totalidad del depósito; los estromas presentan la propiedad de ser solubles en los disolventes de las grasas, cloroformo, éter, etc., y con una composición química completa en la que predominan los lipoides, especialmente lecitina y colestirina.

Donders y Hamburger dan la siguiente interpretación: consideran al hematíe rodeado de una membrana hemipermeable, y con un contenido globular que equivaldría a la cámara osmótica de Pfeffer; siendo la membrana elástica, permite que el G.R. sufra variaciones de volumen, contrayéndose en una solución hipertónica, por pérdida de agua hasta que su concentración sea igual a la de la solución que lo baña y aumentando de volumen en una solución hipotónica por penetración de agua hasta que vencida la elasticidad, la membrana se rompe, saliendo entonces el contenido globular con su materia colorante.

Habría pues un verdadero paralelismo con la plasmólisis y la turgescencia de las células vegetales de De Vries, y obedeciendo a una acción puramente osmótica, como puede verificarse reemplazando el CINa por otras sales, azúcares, etc., o por mezclas de sales y azúcares; la hemólisis se produce para soluciones del mismo punto crioscópico.

Algunos hechos experimentales, parecen, sin embargo estar en abierta contradicción con tan sugestiva teoría; en una solución de urea, los G.R. se disuelven como en el agua destilada, cualquiera que sea la concentración utilizada. Para impedir la hemólisis, es necesario añadir a la solución de urea, una sal o un azúcar en tal proporción que el punto crioscópico dado sólo por la substancia agregada, sea igual a la que se necesitaría estando sola, es decir que la urea no parece actuar en la concentración total. Es importante esta observación por tratarse de una substancia que está normalmente en el suero sanguíneo. Se ha visto además que igual comportamiento presentan el alcohol etílico, las sales amoniacales, etc.

En cambio se ha podido medir directamente por centrifugación (hematocrito de Hedin)

el volumen de una cantidad dada de G.R. y si bien el procedimiento no está exento de errores es evidente la variación del volumen operando con soluciones hipó e hipertónicas; por lo que se refiere a la membrana periférica se cree difícil admitir que ella se rompa en las soluciones hipotónicas a partir de un límite de hinchamiento, porque el desgarramiento se efectuaría en un punto de mínima resistencia y se notaría por allí la salida del contenido, mientras que la realidad corresponde más bien a una explosión total del glóbulo o simplemente a una disolución.

Surgió entonces una nueva teoría: la ideada por Overton. Admite también este autor la existencia de una membrana hemipermeable, pero formada por una mezcla de lipoides (substancias parecidas a las grasas que se diferencian entre sí porque unas contienen fósforo y nitrógeno; son los Fosfátidos: lecitina, colina; otros contienen nitrógeno pero no fósforo: los Gerebrócidos; finalmente hay una tercera clase que son derivados policíclicos: las Esterinas entre ellas la colestirina). Todas las substancias que sean insolubles en tales lipoides; azúcares, sales, etc., no penetrarán a la célula, mientras que el alcohol, los narcóticos, etc., que son solubles, penetrarán fácilmente mismo en soluciones hipotónicas. Que los lipoides están presentes en el glóbulo rojo lo vemos por el análisis de los estromas globulares, pero admitiendo la teoría de Overton, cómo explicar el caso de la urea que no siendo soluble en los lipoides penetra en el hematíe tan rápidamente como el alcohol y como explicar también la entrada de las substancias nutritivas que muchas de ellas son insolubles en los lipoides?

Es inadmisibile la existencia de una membrana rigurosamente hemipermeable de cualquier naturaleza que sea, puesto que con ella no podría efectuarse la nutrición celular. "Si la célula es una cárcel, dicen Moore y Rocofo, llena de prisioneros, sales, etc., que allí no han podido nacer, es necesario admitir la existencia de una puerta de entrada: la membrana, si es que existe, debe ser permeable para permitir el intercambio de todas aquellas substancias que intervienen en el anabolismo y catabolismo celular".

Las experiencias de V. Honri y Calugarea-

nu han demostrado efectivamente, que los G.R. puestos en suspensión en una solución de sacarosa, dejan salir algunas sales, pues la conductividad eléctrica va aumentando en el líquido zucarado; la penetración de las sales exteriores, nitrato de sodio, etc., ha sido también demostrada por Janse.

Se ha modificado modernamente la concepción de Overton, imaginando distintos esquemas en los que la membrana no actúe con hemipermeabilidad rigurosa, sino variable, mereciendo especial mención la de Bancroft, llamada teoría de la emulsión invertida.

**Teoría de Bancroft.** — Para este autor la membrana existiría, pero constituida por una emulsión de gotitas de grasa o de lipoides en un medio acuoso, siendo entonces posible la entrada de todas aquellas sustancias que sean solubles en dicho medio y detenidas las que fueran insolubles, hasta que en determinadas condiciones físico-químicas del medio exterior se invertiría el sentido de la emulsión, es decir el medio acuoso se dividiría en pequeñas gotas dispersadas en las sustancias grasas o lipoidicas lo que permitiría entonces la entrada de todas las sustancias que por solubles en las grasas, habían quedado detenidas en el primer momento. Las dos teorías tan antagónicas de la hemipermeabilidad absoluta y relativa de la membrana, podrían entonces conciliarse, puesto que tal propiedad quedaría supeditada a determinadas modificaciones de carácter físico-químico del medio exterior de la célula.

Esta interpretación tan simplista de los complejos cambios celulares contó desde el primer momento con entusiastas defensores y con acérrimos impugnadores, sosteniendo estos últimos que la concepción de Bancroft orienta el asunto hacia un terreno puramente físico, cual es el de las emulsiones, en el que no se había podido constatar el curioso fenómeno de la inversión y en segundo lugar porque ni el microscopio, ni los potentes aumentos del ultra, han permitido observar la estructura emulsoide de la superficie celular.

Es indudable que en la actualidad se ha debilitado bastante el valor de tales argumentos negativos, debido a las modernas adquisiciones teórico-experimentales sobre las emulsiones, efectuadas sobre todo por la es-

cuela americana y que por sus íntimas relaciones con nuestros problemas y con otros también importantes de física farmacéutica, merecen nuestra especial atención.

Recordemos que las emulsiones son sistemas dispersos, constituidos por dos líquidos insolubles entre sí, uno que llamaremos fase dispersante y otro que está en suspensión dividido en pequeñas gotas, constituyendo la fase dispersada.

Es sumamente difícil obtener emulsiones estables a partir de dos líquidos puros, puesto que por más que se agiten o sacudan, al final la emulsión se separa en dos capas superpuestas de acuerdo con las respectivas densidades. Se ha comprobado sin embargo que hay un límite de máxima estabilidad que corresponde a las emulsiones en que la fase dispersada no excede de 1 a 2% del volumen total. El Prof. Harry N. Holmes de Ohio, cita el caso de una emulsión de este tipo, que permanece estable desde hace doce años.

Exceptuando el caso de las emulsiones que podríamos llamar extraordinariamente diluidas, no se pueden obtener emulsiones estables, si no se emplea una tercer sustancia generalmente de naturaleza coloidal, llamada agente emulsionante, que refuerza los factores de estabilización, ya sea aumentando la viscosidad, o disminuyendo la tensión superficial del medio dispersante. Para algunos autores, Holmes, Child, etc., sería más importante una viscosidad conveniente que una débil tensión superficial; para otros, Hillyer, Langmuir, Draper, Donnan, etc., es el descenso de la tensión el factor más importante corroborado por numerosas experiencias.

El agua, que constituye generalmente el sistema dispersante, tiene una gran tensión superficial que tiende a reunir en una gran gota la totalidad del agua de la emulsión; de aquí que toda sustancia que determine un descenso de dicha tensión, disminuirá aquella tendencia y por consiguiente, estabilizará la emulsión. Hay algunos cuerpos que hacen aumentar la tensión del agua, la mayoría actúan en sentido contrario, llamándose tensicativos, entre los cuales se distinguen por su gran actividad los hidrocarburos de larga cadena carbonada y de pequeño número de radicales exidrilos o carboxilos.

El estudio termodinámico de las propiedades superficiales de las soluciones hecho por Gibbs ha demostrado que toda substancia que disminuya la tensión superficial de un líquido se concentra de manera preferente en las superficies o capas interfaciales y gracias a esta concentración se forma una película alrededor de las gotas del sistema disperso, impidiendo así la ruptura de la emulsión. Sin embargo dicha concentración tiende a un límite, a partir del cual, una nueva cantidad de substancia no modifica el valor de la tensión. Así lo comprueban las determinaciones hechas por Rayleigh, en las soluciones de jabones alcalinos que como es sabido son agentes emulsionantes de primer orden, para los sistemas compuestos de agua y aceite cuyos resultados expresados en dinas por cm. y a 15° son los siguientes:

Agua . . . . .	75
Oleato de sodio a 0.025% . . .	55
Oleato de sodio a 0.25% . . .	26
Oleato de sodio a 0.5% . . . .	26

Es mucho más difícil comprobar experimentalmente que la capa superficial se ha enriquecido en materia disuelta. Tan solo puede lograrse cuando se forma abundante espuma, que representa un aumento considerable de superficie; basta entonces analizar por separado la espuma y el resto del líquido y comparar los resultados; así Holmes y Williams han indicado que el agua saturada de éter, agitada enérgicamente, produce una espuma en la que se concentra el éter, puesto que en presencia de agua iodada sólo la espuma se colorea.

Langmuir ha desarrollado brillantemente, la teoría de una orientación molecular en la superficie de los líquidos. Si sobre la superficie limpia de una masa de agua se distribuye cantidad suficiente de talco y luego se toca un punto en la superficie con una varilla mojada con aceite, se ve formarse un círculo desprovisto de talco alrededor del punto tocado; si se aumenta poco a poco la cantidad de aceite, se ve que la acción se extiende cada vez más, hasta influenciar la totalidad de la superficie; con lo que se demuestra que el aceite se extiende en película continua. Otros líquidos como la bencina no se extienden indefinidamente. Admite Langmuir en

el primer caso que existe una atracción de las moléculas del aceite por la del agua; más concretamente, que la atracción es debida a la presencia en la molécula grasosa de ciertos grupos de átomos activos.

Consideremos el caso del ácido oleico: se sabe que los radicales carboxilos tienen una gran afinidad para el agua medida por la mayor solubilidad de los ácidos orgánicos comparada con la insolubilidad de los hidrocarburos correspondientes. Por otra parte los hidrocarburos tienen una afinidad mutua superior a la que ofrecen con relación al agua, puesto que en general son mutuamente solubles, mientras que se comportan como insolubles para el agua. Cuando el ácido oleico se pone en contacto con el agua, es probable que los grupos carboxilos se disuelvan, en tanto que las largas cadenas hidrocarbonadas, debido a su mutua afinidad y a la poca con relación al agua, no serán solubilizadas. La circunstancia de que el aceite se extienda en la superficie se debe a la presencia en la molécula de grupos activos; la experiencia demuestra en efecto que los aceites parafinados, es decir sin grupo activo, como la bencina, el cimeno, etc., no presentan tal propiedad.

De acuerdo con la teoría de Langmuir, la superficie de la película aceitosa estará formada por las cadenas hidrocarbonadas colocadas al lado de otras verticalmente por arriba de la superficie libre del agua, mientras que los grupos carboxilados estarán por debajo de esta superficie, combinados al agua; la fuerza de la tensión superficial medirá en tales casos las acciones mutuas de los radicales hidrocarbonados. Aplicadas estas ideas a las emulsiones aparecen resultados coincidentes. Dennan ha demostrado que el descenso de la tensión interfacial, unido como sabemos al poder emulsionante, aumenta con la cadena del hidrocarburo, desde el caprilato de sodio que contiene 8 átomos de carbono hasta los términos más elevados, admitiéndose que las moléculas del jabón tienden a orientarse por una parte, la hidrocarbonada, hacia la fase dispersada (grasa, bencina), mientras que la extremidad metálica penetra en la fase dispersante (agua, etc).

(Continuará).